VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA

Estudio observacional retrospectivo sobre la utilidad de la farmacogenética como factor predictivo en la evolución del trasplante hepático y su implementación en la práctica clínica

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Cristina Mª Serrano Millán

Dirigida por:

Dr. Salvador F. Aliño Pellicer

Dra. Mª José Herrero Cervera

Dr. Luis Sendra Gisbert

Valencia. Enero 2025

Dr. Salvador F. Aliño Pellicer, profesor emérito de la Universitat de Valéncia, Dra. María José Herrero Cervera, profesora ayudante Doctora de la Universitat de Valéncia y Dr. Luis Sendra Gisbert, profesor ayudante Doctor de la Universitat de Valéncia.

CERTIFICAN:

Que el trabajo presentado por la Lda. **Cristina María Serrano Millán**, titulado *"Estudio observacional retrospectivo sobre la utilidad de la farmacogenética como factor predictivo en la evolución del trasplante hepático y su implementación en la práctica clínica"*, para obtener el grado de Doctor, ha sido realizado bajo nuestra dirección y asesoramiento.

Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autorizamos la presentación de la Tesis, para que sea juzgado por el tribunal correspondiente.

Lo que firmamos en Valencia enero 2025.

SALVADOR FRANCISCO ALIÑO PELLICER - NIF:20761100N
Firmado digitalmente por SALVADOR FRANCISCO ALIÑO PELLICER - NIF:20761100N
Fecha: 2025.01.15 12:04:18 +01'00'

Salvador F. Aliño Pellicer

MARIA JOSE| HERRERO |CERVERA
Firmado digitalmente por MARIA JOSE| HERRERO| CERVERA
Fecha: 2025.01.15 10:34:03 +01'00'

Mª José Herrero Cervera

SENDRA GISBERT LUIS - 20037569S
Firmado digitalmente por SENDRA GISBERT LUIS - 20037569S
Fecha: 2025.01.15 10:48:09 +01'00'

Luis Sendra Gisbert

AGRADECIMIENTOS

Este es el comienzo de una nueva etapa y el final de un camino importante en mi vida, en este camino he aprendido mucho profesional y personalmente, y en su recorrido me han acompañado muchas personas a las que estoy muy agradecida.

Gracias a mis directores de tesis por darme la oportunidad de realizar este trabajo en su grupo de investigación, con su orientación, consejos, paciencia y cariño han hecho posible esta tesis.

Al Hospital Universitario y Politécnico La Fe y al Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital La Fe de Valencia, por autorizar la realización de este estudio. A los compañeros del IIS La Fe que me acompañaron en mi etapa en Valencia, y a Mamen Arce por ayudarme con los trámites administrativos con la Universidad de Valencia.

A mis maestros, guías y profesores, y a todas las personas que han formado parte de mi vida, porque me han ayudado a ser quien soy ahora.

Como diría mi abuelo Esteban Millán, "*La vida es una rueda, a veces estás arriba y otras abajo, aprovecha y valora los buenos momentos e intenta que los menos buenos duren poco, nada dura para siempre*". Gracias a las adversidades he aprendido a madurar, luchar, amar, empatizar, ser sensible y ser generosa con los que me rodean. Y como el universo es sabio también ha sido muy generoso conmigo, poniendo en mi camino a extraordinarias personas de las que he aprendido y aprendo cada día, que me han querido y me quieren, y con las que comparto este camino fugaz que es la vida.

Soy feliz y afortunada por teneros a mi lado, os quiero mucho y esta tesis tiene un pedacito de cada uno de vosotros, gracias a todos.

A mis amigas y amigos, los que estuvieron y los que están, por los buenos momentos que hemos vivido y viviremos, y porque los malos momentos a vuestro lado fueron, son y serán menos malos. Gracias por escucharme, apoyarme, darme buenos consejos y ánimos para terminar este proyecto.

A mi familia…

A Andrés, Dolores y Andrew por ser mi familia en Valencia y seguir siéndolo, aunque ahora esté más lejos, gracias por estar a mi lado y por ayudarme en todo momento.

A mis tíos Victoria y Jesús, mis primos David, Miriam y Noel, y mis sobris Daniela y Eric, porque siempre me habéis animado y confiado en mí. Tengo mucha suerte de teneros cerca.

A Jara y Sofi, porque no solo los humanos son parte de mi familia.

A mis abuelos, Esteban y Petra, por darme una lección de sabiduría y bondad. Porque he sido muy afortunada al tener a los mejores maestros, gracias por quererme y enseñarme tanto. Siempre estáis conmigo y cada día intento parecerme un poco más a vosotros.

A mis padres y mi hermano, porque estoy aquí gracias a ellos. En especial a mi madre y a mi hermano, gracias por vuestros buenos consejos, por quererme y confiar en mí, sujetarme para evitar mis caídas y tenderme la mano para ayudarme a levantar. Por enseñarme que, siendo buena persona, teniendo valores y buena voluntad todo se puede conseguir. Espero que algún día estéis tan orgullos de mí como lo estoy yo de vosotros.

Y por último gracias a mí, por mi paciencia y perseverancia, por mi sensibilidad, por no rendirme y llegar al final.

A todos y cada uno de vosotros, por acompañarme en esta etapa de mi vida, muchas gracias de todo corazón.

NO TE RINDAS

No te rindas, aún estás a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.

No te rindas que la vida es eso,
continuar el viaje,
perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo,
correr los escombros y destapar el cielo.

No te rindas, por favor no cedas,
aunque el frío queme,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se esconda y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma
aún hay vida en tus sueños.
porque la vida es tuya y tuyo también el deseo
porque lo has querido y porque te quiero.

Porque existe el vino y el amor, es cierto.
porque no hay heridas que no cure el tiempo,
abrir las puertas, quitar los cerrojos,
abandonar las murallas que te protegieron.

Vivir la vida y aceptar el reto,
recuperar la risa, ensayar un canto,
bajar la guardia y extender las manos
desplegar las alas e intentar de nuevo,
celebrar la vida y retomar los cielos.

No te rindas, por favor no cedas,
aunque el frío queme,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se ponga y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños
porque cada día es un comienzo nuevo,
porque esta es la hora y el mejor momento,
porque no estás sola, porque yo te quiero.

Guillermo Mayer

A Esteban y Petra.

A Mª Adelina y José Manuel.

ÍNDICE GENERAL

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS 4
ÍNDICE GENERAL 9
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS 12
LISTA DE TABLAS 15
LISTA DE FIGURAS 17
1. RESUMEN 19
RESUMEN 19
2. INTRODUCCIÓN 23
INTRODUCCIÓN 23
2.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO 23
2.2. EL TRASPLANTE HEPÁTICO*:* Indicaciones del trasplante hepático. 26
2.3. TRATAMIENTO DEL PACIENTE TRASPLANTADO: 27
La Inmunosupresión. 27
2.4. COMPLICIACIONES POST-TRASPLANTE Y SUS FACTORES DE RIESGO. 30
2.4.1. Hipertensión arterial. 32
2.4.2. Diabetes Mellitus *de novo* (DMDN) 32
2.4.3. La insuficiencia y complicaciones renales. 34
2.4.4. Infecciones 36
2.4.5. Neoplasias *de novo* 38
2.5. FARMACOGENÉTICA Y MEDICINA DE PRECISIÓN EN EL TRASPLANTE DE ÓRGANOS SÓLIDOS 40
2.6. ANÁLISIS ECONÓMICOS PARA EVALUAR LA VIABILIDAD DE LA INCLUSIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA EN LA PRACTICA CLÍNICA HABITUAL. 47
3. JUSTIFICACIÓN 52
JUSTIFICACIÓN 53
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 55
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 56
4.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO 56
4.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO 56
4.2.1. Objetivo principal: 56
4.2.2. Objetivo secundario: 56
5. PACIENTES Y MÉTODOS 57
PACIENTES Y MÉTODOS 58

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO 58
5.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO 59
5.2.1. Criterios de inclusión: 59
5.2.2. Criterios de exclusión: 59
5.3. MÉTODOS 60
5.3.1. Variables analizadas: 60
5.3.2. Determinaciones genéticas de los polimorfismos estudiados. 62
5.3.3. Análisis estadístico. 65
5.3.4. Análisis económico preliminar: 65
6. RESULTADOS 67
RESULTADOS 68
6.1. CRIBADO DE LOS PACIENTES INCLUIDOS 68
6.2. DATOS DEMOGRÁFICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS. 69
6.3. ANÁLISIS DE LAS COMPLICACIONES POST-TRASPLANTE HEPÁTICO Y SU RELACIÓN CON LOS SNPs. 72
6.3.1. Comorbilidades asociadas al síndrome metabólico: 72
6.3.2. Nefrotoxicidad crónica y aguda 74
6.3.3. Infecciones 76
6.3.4. Tumores. 77
6.3.5. Supervivencia 81
6.4. ESTUDIO ECONÓMICO PRELIMINAR PARA EVALUAR EL POSIBLE INTERÉS DE REALIZAR UN PRÓXIMO ANÁLISIS FARMACOECONÓMICO EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO 83
7. DISCUSIÓN 88
DISCUSIÓN 89
8. CONCLUSIONES 96
CONCLUSIONES. 97
BIBLIOGRAFÍA 98
ANEXOS 109

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y SIGLAS

A: Adenina

ACTH : Hormona adrenocorticotropa, corticotropina o corticotrofina

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

Ag: Antígeno

ATP: Adenosín trifosfato

AZA : Azatioprina

C: Citosina

CAM: Complejo de ataque a membrana

CdV: Calidad de vida

CGCOF: Consejo General de Colegios de Farmacéuticos

CMH1: Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo I

CMV: Citomegalovirus

COVID-19: enfermedad por el coronavirus SARS-CoV-2

CPA: Célula presentadora de antígenos

CsA: Ciclosporina A

D: Donante

DAP: Disponibilidad a pagar

DM2: *Diabetes mellitus tipo II*

DMDN: *Diabetes mellitus de novo*

EMA: *European Medicines Agency* (Agencia Europea del Medicamento)

G: Guanina

G-CSF: Factor estimulantes de colonias de granulocitos

GP-P: Glucoproteina P

HCC: Hepatocarcinoma

HTA: Hipertensión arterial

ICN: Inhibidores de Calcineurina

IECA: Inhibidor de enzima convertidora de Angiotensina.

IFN-γ: Interferón Gamma

IL-2: Interleukina 2

IL-2R: Receptor de Interleukina 2

IL-3: Interleukina 3

IL-4: Interleukina 4

IMPDH: *Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase*

IR: Insuficiencia Renal

mTOR: *mammalian Target of Rapamycin*

MMF: Micofenolato mofetilo

N: número de pacientes

NFAT: Factor nuclear de células T activadas

OR: *Odds ratio*

ONT: Organización Nacional de Trasplante

PD: *Pharmacodynamics* (Farmacodinámica)

PK: *Pharmacokinetics* (Farmacocinética)

Pmp: por millón de población

R: Receptor

RFLP: polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción

SARS-COV-2: Virus del síndrome respiratorio agudo severo tipo 2

SEFH: Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria

SNS: Sistema Nacional de Salud

SNP: *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de nucleótido único)

T: Timina

Tac: Tacrólimus

TCR: Receptor de células T

TH**:** Trasplante hepático

Tmax: Tiempo máximo

TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa.

TOS: Trasplante de órgano sólido

T1/2: Tiempo de vida media

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UVI: Unidad de Vigilancia Intensiva

VEB: Virus Epstein-Barr

VHC: Virus Hepatitis C

VHS: Virus Herpes Simple

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

VNTR: Variable Number of Tandem Repeats

VVZ: Virus Varicela Zoster

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Características farmacocinéticas/farmacodinámicas e interacciones de los principales fármacos inmunosupresores……..pág. 28

Tabla 2: Principales reacciones adversas y complicaciones derivadas del uso de los inmunosupresores más utilizados……..pág. 31

Tabla 3: Resumen de factores pre-trasplante, intra-operatorios y post-operatorios asociados a la disfunción renal en el TH……pág. 34

Tabla 4: Resumen de las infecciones en función del tiempo de aparición ……pág. 37

Tabla 5: Tipo y frecuencia de 12 tumores *de novo* en 159 pacientes con trasplante hepático……..pág. 39

Tabla 6: Genes y polimorfismos relacionados con los fármacos inmunosupresores estudiados en el trabajo y con la medicación concomitante habitual ……..pág. 44

Tabla 7. Ejemplos de algunos biomarcadores farmacogenéticos validados clínicamente y nivel de recomendación para fármacos relacionados en el contexto de las fichas técnicas de fármacos aprobados por la Agencia de Regulación de los EEUU (FDA). ……...pág. 46

Tabla 8: Evaluaciones parciales y completas. ……..pág. 47

Tabla 9: Tipos de evaluaciones económicas completas. …… .pág. 48

Tabla 10: SNPs incluidos dentro del panel de farmacogenética estudiados en el trabajo. pág. 64

Tabla 11: Características demográficas de la población estudiada (79 pacientes)……pág. 69

Tabla 12: Complicaciones y eventos clínicos durante el periodo de seguimiento tras el trasplante hepático desde el alta hasta los 12 años de seguimiento ……pág. 70

Tabla 13: Datos de la atención médica requerida por los pacientes (visita a urgencias y necesidad de hospitalización) durante el periodo de seguimiento de 12 años……pág. 70

Tabla 14: Variantes farmacogenéticas asociadas a comorbilidades asociadas al síndrome metabólico (Hipertensión arterial *de novo* y Diabetes mellitus tipo II *de novo*), análisis por

regresión logística. . Panel completo de los resultados estadísticos al analizar con todos los SNPs.....pág. 72

Tabla 15: Variantes farmacogenéticas localizadas en genes que codifican proteínas transportadoras asociadas a las variables clínicas seleccionadas tras su análisis mediante regresión logística multivariada. .....pág. 73

Tabla 16: Variantes farmacogenéticas asociadas a nefrotoxicidad crónica, análisis por regresión logística. Panel completo con todos los SNP .....pág. 74

Tabla 17: Variantes farmacogenéticas de transportadores asociadas a nefrotoxicidad crónica y aguda mediante regresión logística multivariada con agrupación de variantes genéticas según el tipo de proteína que codifican. ..... pág. 75

Tabla 18: Variantes farmacogenéticas asociadas a las infecciones graves, análisis por regresión logística multivarable. Panel completo con todos los SNP. .....pág. 76

Tabla 19: Variantes farmacogenéticas de genes de proteínas metabolizadoras asociadas a infecciones mediante regresión logística multivariada.....pág. 76

Tabla 20. Tumores detectados en los 79 sujetos .....pág. 77

Tabla 21: Variantes farmacogenéticas asociadas significativamente con la incidencia de tumores después del cálculo de FDR y regresión logística..... pág. 79

Tabla 22: Análisis con la Regresión de Cox para evaluar la relación entre variantes genéticas y aparición de tumor tras el trasplante. ..... pág. 80

Tabla 23: Variantes farmacogenéticas asociadas significativamente con tasas de supervivencia, después del cálculo de FDR y regresión de Cox. ..... pág. 81

Tabla 24: Resultados de costes pacientes con presencia de Hipertensión arterial *de novo* pág. 84

Tabla 25: Resultados de costes pacientes con presencia de Nefrotoxicidad aguda..... pág. 85

Tabla 26: Resultados de costes pacientes con presencia de Tumores *de novo* ..... pág. 86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Procedimientos de trasplante hepático. España 2014-2023…… pág. 25

Figura 2. Resumen de las indicaciones del TH en Europa…….. pág. 26

Figura 3: Mecanismo de acción de los principales fármacos inmunosupresores utilizados en la prevención y tratamiento del rechazo a aloinjerto …….. pág. 28

Figura 4: Tipos de tumores desarrollados tras el Trasplante Hepático…….. pág. 78

Figura 5: Tipos de tumores *de novo* tras el Trasplante Hepático…….. pág. 78

Figura 6: Riesgo de cáncer *de novo*. Representación de Kaplan-Meier de la aparición de cáncer *de novo* según las variantes genéticas UGT1A9 rs6714486 del receptor…… pág. 80

Figura 7: Tasa de supervivencia. Representación de Kaplan-Meier de la tasa de supervivencia de los pacientes en función de las variantes genéticas del SNP MTHFR rs1801133 del Receptor, mediante el análisis de log-rank…… pág.82

1. RESUMEN

RESUMEN

El trasplante hepático es la mejor y, a veces, única solución para los pacientes con enfermedad hepática crónica o aguda en estadío avanzado, en los que hayan fracasado otras alternativas terapéuticas, ya que puede significar un aumento en la esperanza de vida más allá de lo estimado conforme a la enfermedad subyacente, o un aumento en la calidad de vida de dicho paciente.

A pesar de la interrupción en la asistencia sanitaria mundial y la reducción de la actividad trasplantadora causada por la pandemia del COVID, los datos internacionales de 2021 ratificaron de nuevo el liderazgo mundial de España en el campo del trasplante: se registraron en nuestro país, 1.905 donantes fallecidos y 324 de donantes vivos, que permitieron realizar 4.781 trasplantes. Se efectuaron 2.950 trasplantes renales, 1.078 hepáticos, 302 cardíacos, 362 pulmonares, 82 de páncreas y 7 intestinales. Los últimos datos publicados por la Organización Nacional de Trasplantes en relación con el balance de la actividad en trasplante realizada 2023 vuelven a destacar la gran labor de los profesionales sanitarios, registrando un total de 3.688 trasplantes renales, 1.262 hepáticos, 479 de pulmón, 325 cardíacos, 100 de páncreas y 7 de intestino.

Por lo tanto, como se puede apreciar, la actividad en trasplantes sigue creciendo en España, y en concreto el Trasplante Hepático destaca en el Hospital Universitario La Fe de Valencia siendo el centro donde se han realizado más trasplantes de hígado en 2023, con un total de 102 trasplantes.

Los pacientes trasplantados requieren un seguimiento especial ya que, una vez trasplantados, deben tomar varios medicamentos de manera crónica para evitar el rechazo del injerto. Suelen ser pacientes polimedicados con el consecuente riesgo de interacciones, alteraciones de dosis y efectos adversos desde leves hasta graves, que pueden conducir al retrasplante o incluso la muerte. Por todo ello, el gasto sanitario de los pacientes trasplantados es muy elevado y necesitan un seguimiento clínico durante toda la vida, ya que las posibles complicaciones derivadas del trasplante y la medicación pueden aparecer en cualquier momento. Por estos

motivos es importante disponer de herramientas que puedan aportar información adicional que ayude al clínico en la toma de decisiones. La farmacogenética podría ser una de esas herramientas de ayuda para poder predecir la respuesta de los pacientes a los tratamientos inmunosupresores y, además, intentar predecir la evolución del paciente trasplantado para prevenir los acontecimientos adversos sufridos por los enfermos, que conllevan un mayor gasto al Sistema Nacional de Salud (SNS).

En la actualidad, existen sólidas razones para interpretar parte de las variaciones individuales en la respuesta a los medicamentos como resultado de la variabilidad genética, favoreciendo el uso racional del medicamento. El objetivo de este trabajo es encontrar asociaciones entre variantes genéticas en genes que codifican proteínas que interfieren en el transporte, función y/o metabolización de los fármacos utilizados en los pacientes trasplantados y la aparición de complicaciones tras el trasplante hepático para poder aportar información adicional que ayude al clínico en la toma de decisiones terapéuticas en el enfermo trasplantado. Esto contribuiría a la implementación práctica de la Medicina de Precisión.

Para ello, se ha realizado un estudio unicéntrico, retrospectivo y observacional de una cohorte de pacientes que recibieron un trasplante de hígado en 2008 y 2009 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, con un seguimiento de más de una década. Se desarrolló un panel de variantes genéticas (de tipo *Single Nucleotide Polymorphisms*, SNPs) que incluía variantes en algunas localizaciones de genes que afectan al transporte, al metabolismo y las vías de señalización implicadas en los fármacos inmunosupresores y otros medicamentos concomitantes. En el estudio se incluyó el genotipado tanto del donante como del receptor.

Los datos clínicos se recogieron retrospectivamente consultando las historias clínicas de los pacientes incluidos y se llevó a cabo un seguimiento detallado de las complicaciones hasta los 12 años tras el trasplante hepático. Una vez realizada la recogida de datos clínicos y los genotipos de los receptores y donantes del injerto, se analizaron estadísticamente con el fin de encontrar asociaciones entre la presencia de los polimorfismos genéticos descritos y la aparición de complicaciones posteriores.

Como resultados relevantes, podemos destacar que se detectaron variantes genéticas relacionadas con el riesgo de padecer *Diabetes Mellitus de novo*, hipertensión arterial *de novo*, nefrotoxicidades crónicas y agudas, infecciones y aparición de tumores *de novo tras* el trasplante hepático. También se pudieron correlacionar algunas variantes genéticas del receptor y el donante con una mayor mortalidad.

Finalmente, en una aproximación inicial a los Estudios de Costes se planteó evaluar los costes de la estancia hospitalaria en el post-trasplante inmediato (hospitalización quirúrgica, tiempo en UCI-UVI), los costes de los pacientes que habían visitado urgencias y de los pacientes que habían sido hospitalizados durante el periodo de seguimiento de 12 años, así como un análisis más específico del subgrupo de pacientes que fueron diagnosticados de tumores *de novo* y los gastos mínimos derivados de las visitas a urgencias. Pero debido a los sesgos que se encontraron en el momento de analizar e interpretar los datos se decidió optar por otro planteamiento. Recurriendo a la literatura y conociendo los costes de algunas de las complicaciones recogidas en el estudio, se hizo un cálculo muy preliminar para estudiar la diferencia que supondría en costes para el SNS, ser portador de uno u otro de los genotipos que nuestros resultados asocian a esas complicaciones.

Con los resultados obtenidos, se podría observar que la implementación de la farmacogenética en el trasplante hepático podría suponer un beneficio para el manejo terapéutico de los pacientes optimizando así los recursos disponibles en el SNS. Este trabajo podría servir de punto de partida para futuras investigaciones multicéntricas y con un mayor tamaño muestral, para poder confirmar las hipótesis expuestas.

2. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

2.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

La historia del Trasplante hepático (TH) comenzó en 1955 cuando se mencionó por primera vez en la revista *Transplantation Bulletin*. En este artículo, el Dr. Welch describió la colocación de un hígado auxiliar en un perro. Tras años de experimentación con trasplantes en animales, en 1963 el Dr. Starzl llevó a cabo el primer trasplante humano de la historia, fue realizado en el Veteran's Hospital de Denver, Colorado, Estados Unidos (1,2). En los años posteriores, entre 1963 y 1968, el Dr. Demirleau (en Francia), el Dr. Calne (en Inglaterra) y el Dr. Starzl (en los Estados Unidos) realizaron varias decenas de trasplantes hepáticos con resultados diversos, pero ninguno alcanzó el año de supervivencia (3). A pesar de estos resultados, se siguió trabajando y así, durante las décadas de los sesenta y los setenta, se llevaron a cabo varios trasplantes hepáticos en todo el mundo, pero con una supervivencia al año de un 30% de los pacientes. Afortunadamente, desde 1968 el TH avanzó rápidamente gracias a la mejora en las técnicas quirúrgicas, la anestesia, el manejo de la coagulación y la inmunosupresión. Estos avances impulsaron el trasplante hepático como una herramienta terapéutica cuya declaración tuvo lugar en una conferencia de consenso celebrada en junio de 1983, bajo el auspicio del "National Institutes of Health (NIH)" en Bethesda (Maryland) y con difusión mundial. Una de las conclusiones de esta conferencia fue que *"el trasplante hepático es una modalidad válida para las enfermedades hepáticas en estado terminal…"* (4). Gracias a la investigación realizada anteriormente y el conocimiento de la fisiología y metabolismo hepáticos, el TH se ha convertido actualmente en el tratamiento de elección para el fallo hepático agudo y crónico de cualquier etiología. Se estima una supervivencia al año mayor del 70% y seguirá mejorando en las siguientes décadas, por lo que es un gran avance para los enfermos cuya supervivencia es muy limitada. Como consecuencia de tales logros, se ha empezado a tener en cuenta las reacciones inmunitarias del TH a largo plazo para conseguir una mayor información y conocimiento del mismo.

Además, la larga supervivencia actual de los pacientes trasplantados está dando lugar a que los facultativos den especial relevancia a los resultados a largo plazo, incluyendo los efectos secundarios directos e indirectos de la terapia inmunosupresora.

Desde el inicio de las investigaciones, los trasplantes han crecido exponencialmente. En los últimos años, España mantenía su liderazgo mundial en donación de órganos, pero en 2020 la pandemia mundial debida al brote de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), causado por el virus del síndrome respiratorio agudo severo tipo-2 (SARS-CoV-2), obligó a una reducción en la actividad de trasplante mundial, incluyendo a España. Afortunadamente, según la nota de prensa divulgada por el Ministerio de Sanidad de España el 11 de septiembre de 2022 (5), los datos obtenidos durante la recuperación parcial de la pandemia, la actividad mundial de trasplante de órganos se fue recuperando y creció un 13,6% en 2021. España aportó el 22% del total de donantes de la Unión Europea y el 5% de los registrados en el mundo. Además, esta situación obligó a adaptar los programas de donación y trasplante permitiendo que la actividad se haya recuperado en la mayoría de los países que cuentan con esta prestación sanitaria, según la nota de prensa citada anteriormente.

Es importante destacar que, durante la recuperación de la pandemia, en 2021, los datos internacionales ratificaron de nuevo el liderazgo mundial de España en este campo. En nuestro país, se registraron 1.905 donantes fallecidos y 324 de donantes vivos, que permitieron realizar 4.781 trasplantes. En total, se efectuaron 2.950 trasplantes renales, 1.078 hepáticos, 302 cardíacos, 362 pulmonares, 82 de páncreas y 7 intestinales, según los datos facilitados por la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) (6).

Finalmente, en el pasado año 2023, según la Nota de prensa divulgada por el Ministerio de Sanidad de España el 17 de enero de 2024 (7), en España se realizó un total de 5.861 trasplantes, lo que supuso un crecimiento respecto los años anteriores y el crecimiento en 2023 fue generalizado en todos los tipos de trasplantes, se realizaron 3.688 trasplantes renales (8% más que el año anterior), 1.262 hepáticos (+9%), 479 pulmonares (+15%), 325 cardíacos (+5%), 100 de páncreas (+9%) y 7 intestinales (+75%).

Si se analiza la evolución del TH en España gracias a la Memoria de la actividad de donación y trasplante hepático en España 2023, presentada por la ONT (8) y mostrada en la **Figura 1,** se puede observar cómo se ha desarrollado la actividad entre los años 2014 hasta el final del año 2023. Se observa que coincidiendo con la pandemia por COVID-19 hubo una caída en los trasplantes y posteriormente un aumento progresivo en 2021 con 1.078 trasplantes hepáticos al año en España, coincidiendo con la recuperación de la pandemia. Según los últimos datos

disponibles se demuestra que la actividad de trasplante hepático se ha recuperado superando cifras de antes de la pandemia con 1.262 trasplantes hepáticos.

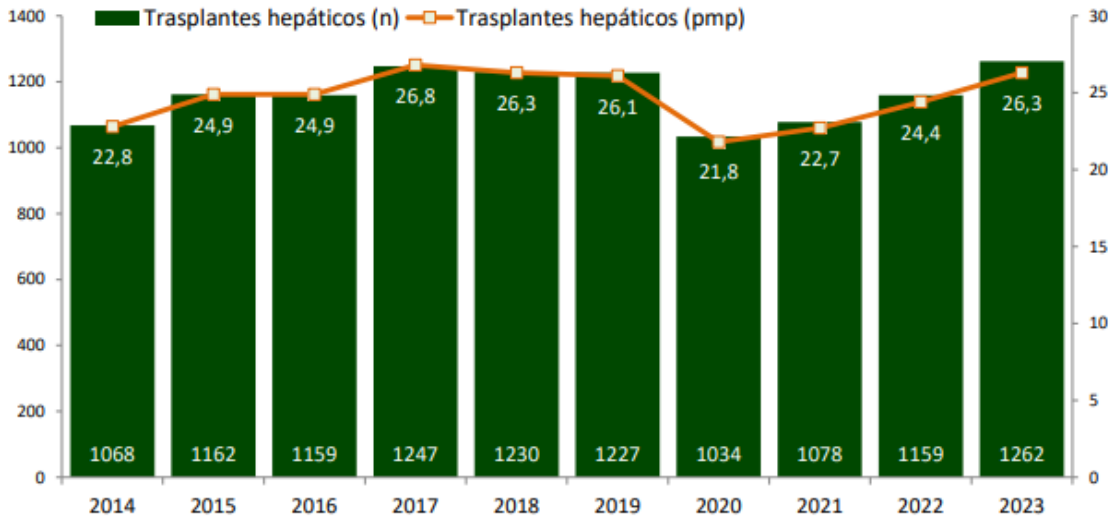

Figura 1: Procedimientos de trasplante hepático. España 2014-2023. *Fuente: Ref.8*

n: número de trasplantes, pmp: por millón de población. Eje horizontal representa los años y eje vertical representa el número de trasplantes hepáticos.

Como se ha demostrado, la evolución del trasplante hepático va creciendo claramente año tras año, por ello es necesario estrategias para evitar los rechazos y complicaciones del trasplante para así minimizar el número de pacientes que fallecen en lista de espera, teniendo en cuenta que las indicaciones del TH han ido aumentado con los años, hay una creciente demanda de injertos y, consecuentemente, una limitada oferta de los mismos.

2.2. EL TRASPLANTE HEPÁTICO: Indicaciones del trasplante hepático.

El TH debe ser considerado en cualquier paciente con enfermedad hepática crónica o aguda en estadío avanzado en el que hayan fracasado otras alternativas terapéuticas, ya que puede significar un aumento en la esperanza de vida más allá de lo esperado conforme a la enfermedad subyacente o un aumento en la calidad de vida (CdV) de dicho paciente. Por lo tanto, según las guías clínicas, los mejores candidatos para el trasplante serían aquellos pacientes cuya calidad de vida sea mala o inaceptable o cuya expectativa de vida sea menor de un año (9).

En la **Figura 2** se resumen las indicaciones de TH, según las guías clínicas europeas.

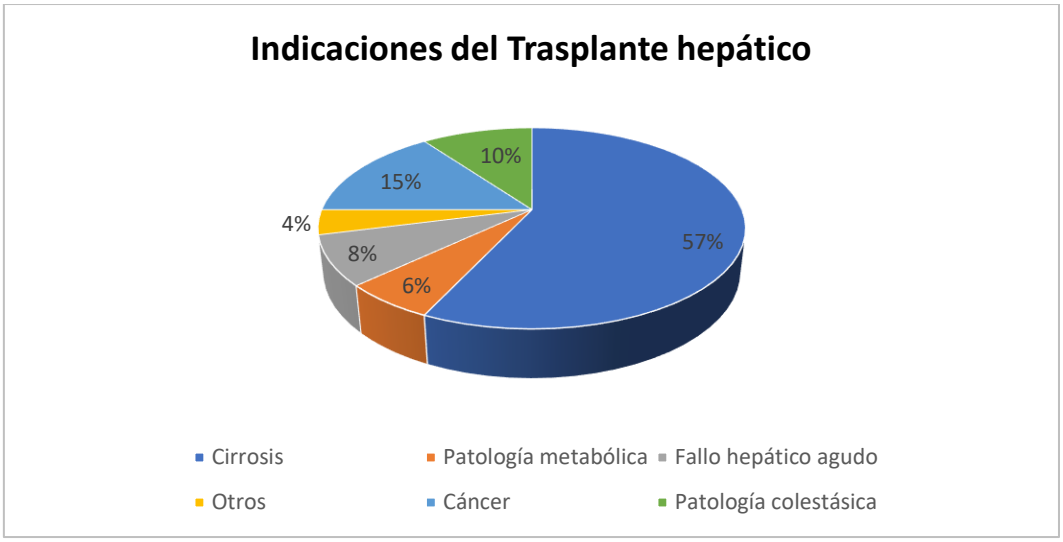

Figura 2. Resumen de las indicaciones del TH en Europa. *Fuente: Ref.9*

*Otros: Budd-Chiari: 792 casos; Tumores benignos de hígado y enfermedad poliquística: 1228 casos; Parasitosis: 80 casos; Otras patologías hepáticas: 1304 casos.

2.3. TRATAMIENTO DEL PACIENTE TRASPLANTADO: La Inmunosupresión.

Después del trasplante, todos los pacientes reciben tratamiento inmunosupresor para evitar el rechazo del injerto que debe estar muy bien ajustado para minimizar los efectos adversos y riesgos asociados (infecciones, toxicidad, insuficiencia renal, tumores, …).

Tal y como se recoge en la Guía farmacoterapéutica de actuación farmacéutica de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH) y el Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (CGCOF) de 2023 (10), los fármacos indicados en la prevención o reversión del rechazo en el Trasplante de órganos sólidos (TOS) se podrían clasificar, en cuatro grupos:

1. Fármacos que interfieren sobre la acción del antígeno en el receptor del linfocito T. Este grupo incluiría a las **inmunoglobulinas antitimocíticas y antilinfocíticas**, así como a los **anticuerpos monoclonales** (por ejemplo, basiliximab, rituximab o alemtuzumab).
2. Fármacos que interfieren en la transmisión del estímulo al núcleo celular. Inhiben la expresión génica que conduciría a la síntesis de IL-2 y otras citocinas, o interfieren con la respuesta proliferativa al estímulo de la IL-2: son los **glucocorticoides** (prednisolona, prednisona y metilprednisolona), **inhibidores de la calcineurina** (tacrólimus y ciclosporina A) e **inhibidores de mTOR** (everólimus y sirólimus).
3. Fármacos que interfieren en la división celular. Pretenden impedir la proliferación de leucocitos (sobre todo, de linfocitos T) afectando lo menos posible al resto, son los fármacos **antiproliferativos** como azatioprina o micofenolato de mofetilo.
4. Otros fármacos:
    - **Belatacept** es un bloqueador selectivo de la coestimulación mediada por CD-86 que inhibe la producción de citocinas por las células T, es capaz de unirse a CD80 y CD86 en las Células presentadoras de antígenos (CPAs,, como consecuencia de lo cual bloquea la coestimulación de los linfocitos T mediada por CD28 e inhibe su activación.

En la siguiente imagen (**Figura 3**) se muestra un esquema del mecanismo de acción de los principales fármacos inmunosupresores utilizados en la prevención y tratamiento del rechazo a aloinjertos.

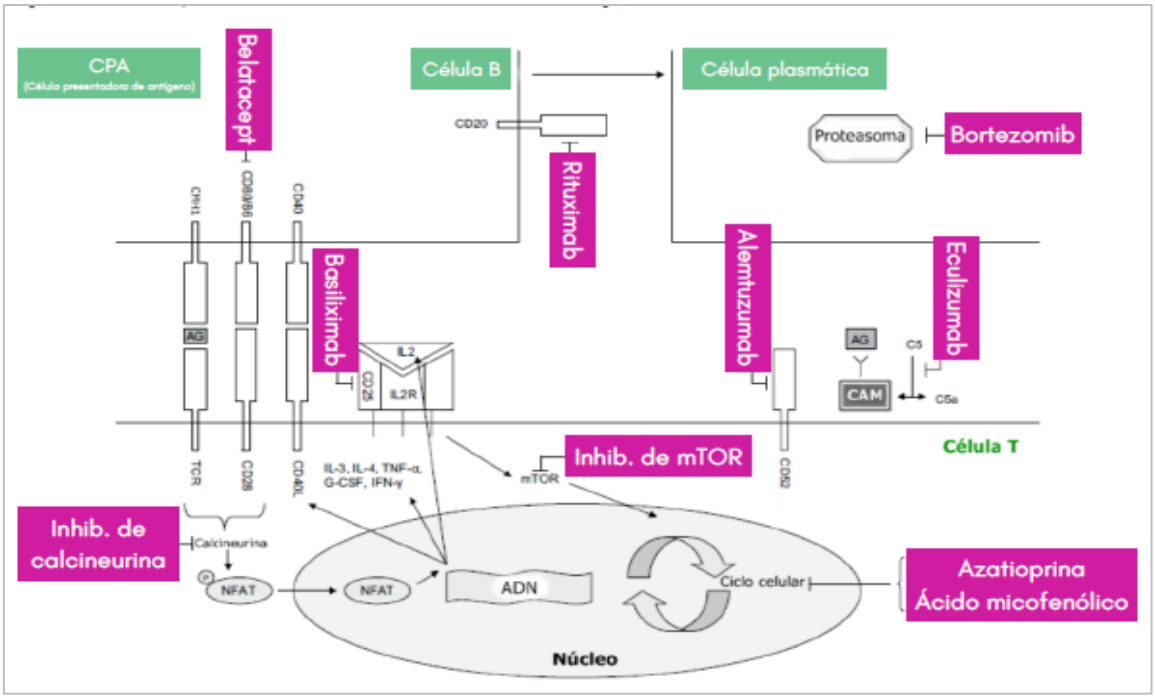

Figura 3. Mecanismo de acción de los principales fármacos inmunosupresores utilizados en la prevención y tratamiento del rechazo a aloinjerto. *Fuente: Ref.10*

*CPA: Célula presentadora de antígenos, CMH1: complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1, AG: antígeno, IL2: Interleukina 2, IL2R: receptor de la Interleukina 2, TCR: Receptor de célula T, NFAT: factor nuclear de células T activadas, ADN: ácido desoxirribonucleico, mTOR: mammalian Target of Rapamycin, CAM: complejo de ataque de membrana, IL-3 : Interleukina 3, IL-4: Interleukina 4, G-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos, IFN-γ: nterferón gamma, TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa

Las características farmacocinéticas/farmacodinámicas e interacciones de los principales fármacos inmunosupresores se resumen en la **Tabla 1**.

Tabla 1: Características farmacocinéticas/farmacodinámicas e interacciones de los principales fármacos inmunosupresores. *Fuente: Ref.10*

INMUNOSUPRESORES	PK/PD	INTERACCIONES
CORTICOIDES	-Sustrato de CYP3A4 - T1/2=3-5 h	- Alcohol - fármacos antiinflamatorios - Diuréticos - Digoxina - Reduce efectos de antidiabéticos e insulina - Anticonceptivos orales
TACRÓLIMUS	-Sustrato de CYP3A4/5/7 y GP-P - Absorción F=0.25 - Tmax= 0.5 – 6h - T1/2=4-41 h	- Es un fármaco nefrotóxico porque potencia la insuficiencia renal - Diuréticos ahorradores de potasio - Inductores de CYP3A4/5

	-Excreción biliar 95% -Excreción urinaria: 1%	- Inhibidores de CYP3A4/5 - Antiácidos
CICLOSPORINA	-Sustrato de CYP3A4 y GP-P -Inhibidore de CYP3A4 y GP-P -Absorción errática e incompleta	- Es un fármaco nefrotóxico porque potencia la disfunción renal - Inductores de CYP3A4/5 - Inhibidores de CYP3A4/5
ÁCIDO MICOFENÓLICO	-Sustrato de CYP3A4 (CYP3A5, CYP2C8) -Ciclo enterohepático -Excreción biliar	-Antiácidos -Colestiramina -Inhibidores de Bomba de protones -Aciclovir, Ganciclovir -Probenecid
AZATIOPRINA	-Metabolismo hepático, profármaco. -Buena absorción - Tmax= 1-2h - T1/2=0.7 – 3h -Excreción urinaria mayoritariamente	-Inhibidores de Xantina oxidasa: incrementen concentración de Azatioprina -Reduce efecto anticoagulante de antagonistas de Vitamina K -Potencia riesgo de mielosupresión de fármacos IECAs
SIRÓLIMUS	-Sustrato de CYP3A4 (CYP3A5 y CYP2C8) y GP-P -Absorción F= 0.14 - T1/2=60h - Tmax= 0.7 – 3h - Excreción biliar 90% - Excreción urinaria: 2.2%	-Inductores/Inhibidores del CYP3A4/5 -Ciclosporina: * Sirólimus potencia la toxicidad de ciclosporina. * Ciclosporina incrementa la concentración de Sirólimus
EVERÓLIMUS	-Sustrato de CYP3A4 y GP-P - Inhibidor de GP-P - Absorción F=0.2 - T1/2=30h - Tmax= 0.5 h - Excreción biliar 80% - Excreción urinaria: 5%	-Inductores/Inhibidores del CYP3A4/5 - Ciclosporina incrementa la concentración de Everólimus

**PK: famacocinética, PD: farmacodinámica, t1/2: tiempo de vida media, Tmax: tiempo máximo, GP-P: Glicoproteína P, IECA= Inhibidor de Enzima Convertidora de Angiotensina.*

Respecto a las estrategias terapéuticas, no existe consenso sobre una pauta única y óptima de inmunosupresión en TOS, pero sí hay una tendencia evidente a favor de combinar varios

fármacos. Cada centro hospitalario suele establecer su propio protocolo y muchos grupos de trasplante tienen su pauta particular. Además, las recomendaciones varían según el tipo de órgano trasplantado y tiempo postrasplante, tal y como se recoge en guías clínicas específicas, como la Guía de Trasplante de Órganos Abdominales (11).

A pesar de esto, en el abordaje del paciente trasplantado se diferencian varias etapas comunes:

- **Inducción**: Con la terapia de inducción se pretende aportar inicialmente una inmunosupresión intensa a corto plazo durante el periodo pre- y perioperatorio y en el postrasplante inmediato. La pauta más aceptada en la actualidad es la combinación de un glucocorticoide con un anticuerpo policlonal (inmunoglobulina antitimocítica) o un anticuerpo monoclonal (basiliximab o alemtuzumab), aunque esto varía según el tipo de órgano trasplantado.
- **Mantenimiento**: La inmunosupresión de mantenimiento supone el empleo de varios fármacos que actúan por diferentes mecanismos con el objetivo de atenuar la respuesta inmunitaria al aloinjerto y prevenir el rechazo en el periodo post-operatorio. Actualmente, la práctica mayoritaria consiste en el empleo de un glucocorticoide (metilprednisolona/prednisona) asociado a un anticalcineurínico (tacrólimus) y a un antiproliferativo (micofenolato de mofetilo).

  El uso de los inhibidores selectivos de mTOR (everólimus o sirólimus) es una alternativa en pacientes que no toleran los antiproliferativos, tienen contraindicado un anticalcineurínico, desarrollan neoplasia postrasplante o bien se emplean para permitir menores dosis de otros fármacos, con el fin de alcanzar una mayor tolerabilidad (12).

2.4. COMPLICIACIONES POST-TRASPLANTE Y SUS FACTORES DE RIESGO.

En la actualidad, es evidente que el trasplante hepático se ha convertido en una forma de tratamiento primordial y efectiva, como se demuestra por la supervivencia a largo plazo del paciente. Sin embargo, es todavía un procedimiento terapéutico con una elevada morbilidad que precisa de un cuidadoso análisis de las complicaciones post-trasplante y de los factores de riesgo para optimizar la selección de pacientes y la distribución de órganos.

Las complicaciones descritas en el post-trasplante pueden estar relacionadas con la propia patología o con los fármacos inmunosupresores que son administrados. Los efectos adversos más comunes son bien conocidos y se resumen en la ***Tabla 2***.

Tabla 2: Principales reacciones adversas y complicaciones derivadas del uso de los inmunosupresores más utilizados. Fuente: *Ref.10*

Fármaco	Toxicidad cardiovascular	Desarrollo de tumores	Infecciones	Supresión de médula ósea	Otras
Glucocorticoides	Hipertensión (++) Dislipemia (+) *Diabetes mellitus* (++)				Aumento de peso, atrofia muscular, osteoporosis, inhibición del crecimiento, alteraciones del sueño, defectos de la coagulación.
Azatioprina		(+)		(+)	Hepatotoxicidad
Ácido Micofenólico y derivados	Dislipemia (+)		Por VEB (-) Por virus BK (+)	(+)	Síntomas gastrointestinales
Ciclosporina A	Hipertensión (++) Dislipemia (+++) *Diabetes mellitus* (+)	(+)		(+)	Nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hiperplasia gingival
Tacrólimus	Hipertensión (+) Dislipemia (++) *Diabetes mellitus* (++)	(+)	Por virus BK (+)	(+)	Nefrotoxicidad, neurotoxicidad
Inhibidores de mTOR (Everólimus, Sirólimus)	Dislipemia (+++) *Diabetes mellitus* (+)		Por CMV (-)	(+)	Alteraciones en la coagulación y retraso en la cicatrización de heridas

**VEB: Virus Epstein Bar, CMV: Citomegalovirus*

El signo (+) indica que el riesgo para esa reacción adversa en concreto está incrementado, mientras que el signo (–) alude a un teórico menor riesgo de esta. Si una casilla está en blanco quiere indicar que no se ha descrito ni aumento ni disminución del riesgo.

Una vez revisadas las principales reacciones adversas y complicaciones derivadas del uso de los inmunosupresores más utilizados, es importante revisar las complicaciones post-TH más comunes, son las siguientes:

2.4.1. Hipertensión arterial.

La aparición de hipertensión arterial (HTA) tras el trasplante hepático es frecuente y, además, es el factor de riesgo cardiovascular más prevalente en estos pacientes. Su incidencia varía a lo largo de la evolución postrasplante. Se ha descrito que hasta el 75-85% de los pacientes trasplantados precisaban tratamiento farmacológico anti-hipertensivo transcurridos 2 años tras el trasplante hepático (13-16)

Los mecanismos que explican la aparición de hipertensión arterial tras el trasplante no están bien caracterizados y su etiología parece ser multifactorial, por lo que factores como la obesidad, la insuficiencia renal o la administración de fármacos inmunosupresores pueden influir en que el paciente trasplantado sufra hipertensión arterial.
En el caso del tratamiento inmunosupresor, los inhibidores de la calcineurina (especialmente ciclosporina) y los corticoides son los fármacos que más aumentan el riesgo de HTA, los primeros por incremento de la síntesis de endotelina, disminución de óxido nítrico y retención de sodio, y los segundos, por un aumento de la reabsorción de sodio y por una estimulación de tipo mineralocorticoide.

El abordaje de la HTA en pacientes sometidos a TH debe individualizarse, los antagonistas del calcio se consideran el tratamiento de elección, especialmente por su potente efecto vasodilatador, que contrarresta los efectos vasoconstrictores de tacrólimus y ciclosporina, y porque se ha demostrado que aumentan la supervivencia del injerto respecto a los IECA (17). Aunque se debe tener en cuenta que los inhibidores de los canales de calcio pueden provocar un aumento de las concentraciones de ciclosporina por inhibición de su metabolismo.

2.4.2. Diabetes Mellitus *de novo* (DMDN).

Aproximadamente, en el 10-40% de los pacientes receptores de TH se desarrolla *diabetes mellitus* en el primer año después del trasplante. Como se indica en la literatura, dicha complicación se asocia con un aumento de la mortalidad y del riesgo de complicaciones

infecciosas y cardiovasculares, así como también con un notable empeoramiento de la calidad de vida.

La diabetes es una enfermedad multifactorial y muchos de los factores que aumentan el riesgo de padecerla son prevenibles o tratables. De entre los factores de riesgo clásicos para su desarrollo, el sobrepeso-obesidad, la hipercolesterolemia, la deficiencia de vitamina D y la cirrosis alcohólica se han asociado con un riesgo mayor tras el trasplante hepático (18-20).

También se deberían considerar diversos factores de riesgo relacionados con el tratamiento post-trasplante.

Se ha descrito que los inmunosupresores y el tratamiento con esteroides pueden generar resistencia a la insulina, así como la infección por Virus de Hepatitis C (21).

En la ***Tabla 2***, se detallan las complicaciones post-TH derivadas del uso de los fármacos inmunosupresores más comunes y, como se puede observar, los inmunosupresores más habitualmente utilizados presentan un efecto diabetogénico:

- Los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina, tacrólimus) disminuyen la secreción de insulina, aumentan la resistencia a la insulina y disminuyen la captación de glucosa por los tejidos.
- Los inhibidores de mTOR (everolimus, sirolimus) reducen la respuesta de las células β de los islotes pancreáticos y disminuyen la síntesis del transportador GLUT1.
- Los glucocorticoides incrementan la resistencia a la insulina, aumentan la producción hepática de glucosa, reducen la secreción pancreática de insulina y aumentan la lipolisis del tejido adiposo.

Es importante tener en cuenta que el diagnóstico de DMDN debe hacerse cuando los pacientes están estables en su tratamiento de inmunosupresión de mantenimiento, la función del hígado trasplantado está estable y no hay una infección aguda en curso. La hiperglucemia es frecuente en el periodo post-trasplante, por lo que el diagnóstico debe hacerse pasadas 6 semanas de la intervención.

La terapia con insulina para tratar las hiperglucemias tras el trasplante inmediato ha demostrado disminuir el riesgo de DMDN. Y en el caso de los pacientes trasplantados, la elección del fármaco más apropiado para el tratamiento de la DM debe considerar la eficacia, los efectos adversos y el potencial de interacciones con los inmunospuresores. Se recomienda monitorizar la terapia, pero hay que destacar que no existen interacciones clínicamente relevantes entre los fármacos antidiabéticos más habituales y los inmunosupresores más utilizados (prednisona, micofenolato, tacrólimus y everolimus).

Para finalizar, no hay que olvidar que en el tratamiento del paciente trasplantado con DMDN hay que abordar diversos puntos, es imprescindible una adecuada educación diabetológica, la modificación del régimen de vida y la alimentación, el tratamiento antidiabético y un control adecuado del resto de factores de riesgo cardiovascular (21,22).

2.4.3. La insuficiencia y complicaciones renales.

La disfunción renal es otra de las complicaciones más frecuente que tiene lugar tras el trasplante hepático. En la aparición de la insuficiencia renal influyen factores pre-trasplante, intra-operatorios y post-operatorios, que se resumen en la siguiente ***tabla 3***.

Tabla 3. Resumen de factores pre-trasplante, intra-operatorios y post-operatorios asociados a la disfunción renal en el TH. *Fuente: Ref.23 y 24*

Factores pre-trasplante	**Factores intra operatorios**	**Factores post-operatorios**
Disfunción renal pre-trasplante	Inestabilidad hemodinámica	Fármacos nefrotóxicos (Inhibidores de la calcineurina y fármacos antimicrobianos)
Hipoperfusión renal crónica	Sangrado	Virus Hepatitis C
Hiperbilirrubinemia	Técnica quirúrgica	Sepsis
Hipoalbuminemia		Malfunción del injerto
Hipertensión		Síndrome postreperfusión
Diabetes		Nefropatía por contraste
Virus Hepatitis C		Vasopresores
Dislipemia		Infecciones
Hiperuricemia		Hipertensión
Edad avanzada		Diabetes
Sexo masculino		Dislipemia

La existencia de alteraciones de la función renal es frecuente en los pacientes con cirrosis hepática y algunos de ellos, por tanto, habrán presentado diversas alteraciones renales antes del trasplante.

En estudios publicados, se estima que aproximadamente entre el 21 y el 73% de los pacientes trasplantados hepáticos desarrollan disfunción renal aguda en el periodo post operatorio inmediato (25). Además, se ha descrito que la incidencia acumulada a los 5 años alcanza el 18,1 % en los pacientes con TH (26), el 78 % de los cuales podría presentar disfunción renal leve-moderada y aproximadamente el 2-6% desarrollar insuficiencia renal terminal (27).

Las causas más frecuentes de disfunción renal aguda en el periodo post operatorio inmediato son la necrosis tubular aguda y los niveles elevados de los inhibidores de la calcineurina (ICN), que son nefrotóxicos, como se muestra en las ***Tablas 2 y 3***. Esta disfunción renal precoz es transitoria y generalmente desaparece al reducir los niveles de los inmunosupresores, por lo que es importante la monitorización estrecha de la producción de orina y de los niveles de creatinina sérica, así como de biomarcadores específicos. Estos controles pueden mejorar el reconocimiento temprano de la Insuficiencia Renal (IR) y así poder realizar una intervención rápida para mejorar los resultados (10, 23, 24). Sin embargo, en algunos pacientes la disfunción renal evoluciona hacia la cronicidad y la nefrotoxicidad se convierte en uno de los principales factores limitantes de la dosis de inmunosupresores.

Como se ha comentado anteriormente, la aparición de insuficiencia renal aguda y crónica en relación con el tratamiento inmunosupresor con Inhibidores de Calcineurina (ICN) (Tacrólimus y Ciclosporina A) es bien conocida. Se han realizado estudios comparando los dos tratamientos y se ha demostrado que no existen diferencias en la incidencia entre los dos fármacos (28-31). Además, ambos inmunosupresores aumentan el riesgo de diabetes e hipertensión arterial, complicaciones que a su vez se asocian con el desarrollo de insuficiencia renal crónica.

Es importante valorar el manejo de los pacientes en los que aparezcan estas alteraciones renales, ya que será necesario ajustar la dosis o cambiar de inmunosupresión con el fin de mejorar la insuficiencia renal. Aunque hay que tener en cuenta que el cambio de inmunosupresión tardío parece que no ofrece ventajas significativas en la función renal sí que existe una mejora con el cese del ICN, pero considerando que la vasoconstricción prolongada puede causar daño histológico irreversible y conducir a una enfermedad renal terminal (32).

En los últimos años, se han realizado diversos estudios para evaluar nuevos agentes inmunosupresores que limiten la nefrotoxicidad relacionada con ICN. De ellos, se han obtenido protocolos de minimización de ICN basados en el Ácido Micofenólico y derivados, inhibidores de mTOR (Sirólimus y Everólimus) y terapia de inducción con agentes biológicos (33). Para ayudar a la toma de decisiones clínicas, se dispone de varias revisiones sistemáticas. Una de ellas estudia el uso del régimen minimizado usando el fármaco Micofenolato de Mofetilo (MMF) y los resultados determinaron que los pacientes con MMF y dosis bajas de ICN tuvieron un riesgo significativamente menor de experimentar disfunción renal grave (RR = 0,57; IC [0,41 - 0,78]) (34). Otra revisión sistemática estaba enfocada a la minimización de la dosis de ICN o sustitución por inhibidores de mTOR y demostró un efecto protector en términos de función (35).

A pesar de los estudios realizados y la información obtenida de las revisiones sistemáticas, los objetivos convencionales para las concentraciones mínimas de Tacrólimus utilizadas en el TH son altos (10-15 ng/ml durante las primeras 4-6 semanas y 5-10 ng/ml a partir de entonces) y se basan en ensayos diseñados para el trasplante de riñón, en el que el riesgo de rechazo del injerto es más elevado. Por otro lado, en otro estudio con una amplia cohorte de pacientes de TH se ha demostrado que niveles de Tacrólimus entre 7 y 10 ng/mL durante las primeras 2 semanas post-TH se asocian con una mejor supervivencia del injerto (RR = 0,46; p = 0,014) sin aumentar el riesgo de rechazo celular (36).

2.4.4. Infecciones

Otra de las complicaciones importantes del trasplante hepático son las infecciones. Debido a la complejidad técnica del trasplante hepático por tratarse de una cirugía abdominal y potencialmente contaminada, el desarrollo de infecciones en estos pacientes es mayor que en otro tipo de trasplantes (37). Afortunadamente, con la instauración de protocolos de profilaxis antibiótica, en los últimos años se ha logrado disminuir la mortalidad que se producía inicialmente.

En el caso de las infecciones que ocurren tras el trasplante hepático, según la literatura, la cronología de las infecciones en receptor de un TH es parecido al de otros trasplantes de órgano sólido (38-44). En la ***tabla 4***, podemos ver las infecciones en función del tiempo de aparición

Tabla 4. Resumen de las infecciones en función del tiempo de aparición.

Fuente: Refs. 38-44

	Periodo inicial (3-4 semanas después del TH)	**Período intermedio (2-6 meses post-trasplante)**	**Período tardío. (Se inicia a los 6 meses de la cirugía)**
TIPOS DE INFECCIONES	Relacionadas con complicaciones quirúrgicas y de la herida	Infecciones oportunistas como consecuencia del tratamiento inmunosupresor	Infecciones por organismos adquiridos en la comunidad
	Producidas por bacterias nosocomiales		Enfermedades oportunistas
	Bacterianas y fúngicas origen en el tracto gastrointestinal		Virus de Hepatitis
	Intraabdominales (abscesos, peritonitis)		VEB, VVZ
	de la vía biliar (la estenosis biliar y colangitis		
	Neumonías		
	Reactivación del virus herpes simple (VHS)		

**VEB: Virus Epstein Bar, VVZ: Virus Varicela Zoster, VHS: Virus Herpes Simple*

Los fármacos inmunosupresores tienen un papel importante en la aparición de infecciones tras el TH, ya que debilitan el sistema inmunológico para evitar el rechazo del órgano y por eso, el paciente es más propenso a sufrir infecciones. Se deben tener en cuenta unas consideraciones generales respecto a las infecciones:

- el riesgo de infecciones por CMV está aumentado con todos los fármacos inmunosupresores, pero se cree que los inhibidores de mTOR lo atenúan y que la Ig antitimocítica lo aumenta en mayor grado.
- la infección por VEB aumenta el riesgo de trastorno linfoproliferativo postrasplante, que también se ve incrementado por la terapia de inducción o de rechazo con anticuerpos poli- y monoclonales.

- el riesgo de una infección por el virus BK depende del grado global de inmunosupresión, pero el ácido micofenólico y tacrólimus parecen aumentar el riesgo.

2.4.5. Neoplasias *de novo*

El trasplante hepático ha sido la solución clínica a un grave problema para muchos pacientes, pero desde hace varios años se ha detectado un incremento en el desarrollo de tumores *de novo*, observándose una incidencia de un 3 a 26%, el doble que la observada en la población general de similar edad (45-51).

En general, en el caso de los trasplantes de órganos sólidos (TOS), los tumores asociados a inmunosupresión son tumores oportunistas que se desarrollan en aproximadamente entre el 5 % y el 15 % de los pacientes que reciben un TOS y son una de las complicaciones más graves. Se producen, entre otras causas, por la disminución de la inmunocompetencia que ocurre en los pacientes inmunodeprimidos. Los tumores representan la segunda causa de muerte a largo plazo en pacientes trasplantados (52) y la incidencia de neoplasias en trasplantados es de más del doble de la esperada en una cohorte de población de similar edad y situación general no trasplantada, y aumenta con los años transcurridos desde la realización del trasplante. Estudios recientes apuntan a una incidencia acumulada de neoplasias *de novo* de un 9-10 % a los 10 años postrasplante y de entre un 10-27 % a los 20 años, excluyendo el cáncer de piel no melanoma. A grandes rasgos, se calcula que el riesgo anual de desarrollar un tumor maligno después de un TOS es del 2-6 %. Además, estos pacientes también presentan mayor riesgo de desarrollar una segunda neoplasia (53).

Existen diferentes factores que han sido relacionados con el desarrollo de estos tumores, entre ellos, el tipo y la duración de la inmunosupresión utilizada, la etiología de la enfermedad de base, el tiempo transcurrido desde que se realizó el trasplante y la incidencia local de cáncer. La frecuencia y etiología de los tumores *de novo* que aparecen en pacientes con TH han sido estudiadas en algunos trabajos y destaca un estudio donde se detectó un 7,5% de tumores *de novo*, cuyo tipo y frecuencia eran variables (45). Los resultados del estudio se detallan en la ***Tabla 5.***

Tabla 5. Tipo y frecuencia de 12 tumores de novo en 159 pacientes con trasplante hepático.

Ref. 45

Tipo de Tumor	N	N/12 (%)	N/159 (%)
Cutáneo basocelular	2	16,7	1,3
Cutáneo espinocelular	2	16,7	1,3
Adenocarcinoma de colon	1	8,3	0,6
Carcinoma de pulmón poco diferenciado	1	8,3	0,6
Urotelioma de vejiga	1	8,3	0,6
Adenocarcinoma de próstata poco diferenciado	1	8,3	0,6
Adenocarcinoma de endometrio bien diferenciado	1	8,3	0,6
Metástasis de adenocarcinoma de origen desconocido	1	8,3	0,6
Enfermedad linfoproliferativa postrasplante	1	8,3	0,6
Leucemia promielocítica aguda M3	1	8,3	0,6

N: número de pacientes

En estudios más recientes se ha demostrado un patrón de neoplasias dependiente del tipo de aloinjerto. Por ejemplo, en los pacientes con trasplante hepático, cardiaco o cardiopulmonar, se observa una mayor incidencia de trastornos linfoproliferativos que en los trasplantados renales. Los tres tumores más característicos de los trasplantados hepáticos son los cánceres cutáneos, los trastornos linfoproliferativos y el sarcoma de Kaposi (asociado al virus herpes humano 8).

Finalmente, es importante señalar que el tipo de inmunosupresión farmacológica utilizada también influye en el desarrollo de ciertos tipos de neoplasias en trasplantados. En este sentido, la utilización de la ciclosporina A se asoció con un cambio en el tipo y comportamiento de las neoplasias *de novo* respecto a regímenes más clásicos con azatioprina y prednisona, haciéndose más frecuente la aparición de procesos linfoproliferativos, sarcomas de Kaposi y carcinomas renales, y menos frecuente la de tumores de piel y vulva-periné.

2.5. FARMACOGENÉTICA Y MEDICINA DE PRECISIÓN EN EL TRASPLANTE DE ÓRGANOS SÓLIDOS.

La medicina de precisión de define como "*la utilización de datos genómicos, epigenómicos, exposición y otros para definir patrones individuales de la enfermedad, que puedan llevar a un mejor tratamiento individual.*" Farmacogenética y farmacogenómica constituyen dos de los pilares de la misma y su objetivo final es optimizar el tratamiento de cada paciente en base a su composición genética y crear protocolos que permitan a los médicos decidir cuál es el fármaco más adecuado y la dosis correcta.

La **Farmacogenómica** es la combinación de dos campos de investigación y dos palabras diferentes: "farmacología" y "genómica", y estudia la manera en la que los individuos responden a un medicamento en particular en base a su genética. Con esta ciencia se detectan las diferencias en el metabolismo y transporte de los fármacos (farmacocinética), y respuesta fisiológica a su acción farmacológica (farmacodinámica), identificando personas que responden y personas que no responden a un fármaco, así como predecir la eficacia y/o toxicidad a un fármaco. Esta información permite personalizar la selección de los fármacos utilizados en su tratamiento médico. De este modo, la farmacogenética pretende dar un enfoque más individualizado (o preciso) al uso de los medicamentos disponibles para tratar a los pacientes (medicina de precisión).

Una **variante genética** es un cambio permanente en la secuencia de ADN que puede afectar a uno o más componentes básicos del ADN (nucleótidos) en un gen. Hay que destacar que estos cambios en el ADN no siempre causan enfermedad. De hecho, sólo un pequeño porcentaje de variantes causa trastornos genéticos, la mayoría no tiene ningún impacto en la salud o el desarrollo. Las variantes genéticas pueden tener diversos efectos sobre la salud, según dónde se produzcan y si alteran la función de las proteínas esenciales.

El **polimorfismo** es la posible presencia de dos o más variantes en un lugar concreto de una secuencia específica de ADN. Los polimorfismos pueden producirse por:

Variaciones que implican segmentos largos del DNA: Ausencia o presencia de un tramo entero del ADN.

- Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción o RFLP (del inglés Restriction Fragment Length Polymorphism). Corresponde a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción.

- Polimorfismos en el número de repetición en tándem o VNTR (Variable Number Tandem Repetition). Son secuencias cortas de ADN, normalmente con una longitud de 2 a 5 pares de bases, que se repiten de forma consecutiva.

Variaciones que implican la variación en un único nucleótido (también denominado **Polimorfismos de nucleótido único, o SNP**). Es decir, cambios de una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)).

Los SNPs constituyen hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas y se pueden localizar dentro de una secuencia codificante o no codificante. Cuando está en una zona codificante y modifica la cadena de aminoácidos de la proteína resultante, se llama SNP "no sinónimo". Si entre las dos variantes alélicas no se modifica el aminoácido codificado, se denomina "sinónimo". Los SNPs que se encuentren en regiones no codificantes pueden tener consecuencias en el proceso de traducción, la unión de factores de transcripción o modificar la secuencia de ARN no codificante (54).

La presencia de variantes genéticas funcionales en genes que intervienen en el metabolismo y transporte de fármacos puede afectar a la respuesta de un paciente a los mismos. Por ejemplo, los genes que codifican para las familias de enzimas citocromo P450 participan en el metabolismo de la mayor parte de los medicamentos utilizados. Estos genes pueden tener variantes que llevan a que el metabolismo y eliminación de los fármacos sea más lento, de modo que se puede producir una acumulación de fármaco y toxicidades. De forma contraria, aquellas variantes genéticas que hagan que los fármacos se eliminen de forma rápida reducirán su efectividad y, en esos casos, será necesario utilizar dosis más altas o plantear otros tratamientos alternativos. Esto se puede traducir en consecuencias clínicas importantes:

- Los metabolizadores lentos sufrirán las consecuencias de su baja capacidad metabólica, aumentando el riesgo de toxicidad en el caso de un fármaco activo; o falta de eficacia cuando se trate de un profármaco que requiera activación enzimática. Los polimorfismos afectarán también a la capacidad para desarrollar interacciones metabólicas.

- En cuanto a los metabolizadores rápidos, corremos el riesgo de no alcanzar el efecto deseado si perdemos demasiado rápido la especie activa, por lo que necesitaríamos un incremento de dosis. En el caso de profármacos, un metabolismo demasiado rápido puede provocar una concentración plasmática del metabolito activo mayor a la esperada y quizá toxicidad.

En el trasplante de órganos sólidos son varios los genes y variantes genéticas que están relacionados con los fármacos inmunosupresores utilizados, de modo que es necesario conocerlos para la óptima elección del tratamiento. Además, existen varios estudios que intentaron relacionar los polimorfismos con la evolución del trasplante y los eventos adversos, pero la mayor parte de ellos no fueron concluyentes.

En las etapas de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción intervienen, entre otros, los genes que codifican transportadores y enzimas metabolizadoras. El metabolismo de la mayoría de los fármacos se produce a través de la superfamilia de proteínas del citocromo P450, principalmente mediante reacciones de oxidación por CYP3A a nivel hepático (también en intestino); en el metabolismo de los fármacos inmunosupresores usados en el TH, es la isoforma CYP3A4 la principal enzima metabolizadora. A pesar de que CYP3A4 es la isoenzima hepática con mayor actividad catalítica sobre los inmunosupresores, la variabilidad alélica interindividual no parece tener demasiada relevancia clínica en el TH. La variante 22 (CYP3A4*22), aunque es poco frecuente, podría reducir el aclaramiento de ciclosporina en un 15 %, aumentando su toxicidad renal.

Existen grupos de población en los que se observa una actividad metabolizadora elevada o disminuida de estas enzimas como consecuencia de la presencia de diversos polimorfismos (variantes alélicas de un gen). Esta variabilidad tiene especial relevancia clínica en el caso de CYP3A5, principal enzima metabolizadora de tacrólimus, cuyos polimorfismos explican casi la mitad de los requerimientos de cambio de dosis de tacrólimus. Así, la variante alélica *1 de esta enzima (*CYP3A5*1*) presenta una actividad que hace que los individuos en los que se expresa en homocigosis requieran una dosis de tacrólimus entre 1,5-2 veces mayores que la estándar para alcanzar concentraciones plasmáticas semejantes a los individuos en los que la variante expresada es la *3 (*CYP3A5*3*), la más común en nuestro entorno, que no tiene actividad metabólica debido a un codón de parada prematuro. Teniendo esto en cuenta, se debería realizar un genotipado pre-trasplante del paciente cuando sea posible y ajustar la dosis de tracrólimus en función de la variante enzimática para reducir la probabilidad de infradosificación del fármaco y de rechazo agudo del trasplante.

La glucoproteína P o gp-P (codificada por el gen *ABCB1* o *MDR-1*) es un transportador transmembrana dependiente de ATP que actúa como bomba de flujo de xenobióticos, incluidos muchos fármacos, en diversos tejidos como el epitelio intestinal, el hígado, el túbulo proximal renal y el endotelio capilar. La variante genética más relevante conlleva una menor expresión de gp-P e implica un aumento de las concentraciones sanguíneas de los fármacos que son

sustrato de esta proteína, como tacrólimus y sirólimus. Es importante tener en cuenta en estos pacientes que la ciclosporina es inhibidora de la glucoproteína P, lo que puede provocar un mayor descenso en su actividad, por lo que deberían monitorizarse los niveles plasmáticos.

Un último caso de variabilidad farmacogenética destacable es el de la enzima tiopurina S-metiltransferasa (TPMT). Aquellos pacientes que presenten un déficit de actividad de esta tienen mayor sensibilidad a la inmunosupresión con el uso de azatioprina, debiéndose ajustar la dosis a la baja de ese fármaco, en caso de emplearse. Será conveniente, por tanto, medir la actividad de esa enzima antes de iniciar el uso de azatioprina (55).

A continuación, en la **tabla 6,** se resumen los genes implicados en la farmacocinética de los fármacos inmunosupresores y se detallan los SNPs estudiados en este trabajo, ya que existen multitud de SNPs y sería inviable abarcarlos todos.

Para realizar este trabajo y consultar los SNPs que están en fase de investigación y aquellos con un nivel de evidencia científica elevado, se ha utilizado la base de datos pública PharmGKB. Ésta recopila toda la información que se publica acerca de la asociación de variantes genéticas y la respuesta de los pacientes a la medicación y ayuda a la difusión del conocimiento sobre el impacto de la variación genética humana en la respuesta a los fármacos muy utilizada por los investigadores (56).
En la ***Tabla 6*** se reflejan los genes y polimorfismos relacionados con los fármacos inmunosupresores estudiados, en ella se plasma la información con evidencia científico-clínica más elevada y el resto de información que relaciona SNP con fármaco está todavía en fase de investigación.

Tabla 6: Genes y polimorfismos relacionados con los fármacos inmunosupresores estudiados en el trabajo y con medicación concomitante habitual. *Fuente: Ref. 56. Los fármacos en negrita tienen un elevado nivel de evidencia en su relación con los SNPs indicados de acuerdo con los 3 pilares fundamentales de PharmGKB (Clinical Annotations Levels 1 y 2, Drug Label, Clinical Guideline Annotations)*

Gen	**SNP**	**Función**	**Fármacos relevantes implicados (inmunosupresores y medicación concomitante)**
CYP3A5	rs41303343 rs10264272 rs776746	Metabolización	**Tacrólimus** Ciclosporina Sirólimus Micofenolato mofetilo Glucocorticoides
CYP3A4	rs2740574	Metabolización	Tacrólimus Ciclosporina Sirólimus Micofenolato mofetilo **Opioides**
CYP2C9	rs1799853 rs1057910	Metabolización	**AINEs** **Fluvastatina**
CYP2C19	rs4244285	Metabolización	**Omeprazol** **Pantoprazol**
CYP2B6	rs2279343 rs3745274	Metabolización	**Opioides** Ciclofosfamida
ABCB1	rs1045642 rs1128503 rs2032582 rs229109 rs223501	Transporte	Tacrólimus Ciclosporina

	rs2235033		Sirólimus
	rs3213619		
	rs9282564		
ABCC2	rs3740066	Transporte	Ciclosporina Micofenolato Mofetilo
	rs2273697		
	rs717620		
ABCG2	rs2231142	Transporte	Tacrólimus
TPMT	rs1142345	Metabolización	**Azatioprina** **Mercaptopurina, Tiogunanina**
	rs180046		
	rs1800462		
MTHFR	rs1801131	Descomposición de Homocisteína	Metotrexato Ácido fólico
	rs1801133		
NOD2	rs2066844	Estimulación del Sistema Inmune	Tacrólimus Ciclosporina
	rs2066845		
SLCO1B1	rs2306283	Transporte	**Estatinas**
	rs4149056		
UGT1A9	rs17868320	Metabolización	Micofenolato mofetilo
	rs6714486		
	rs7251330		

**SNP: Single Nucleotide Polymorphism, polimorfismo de nucleótido único. AINEs: Antiinflmatorios No esteroideos*

En algunos casos, la farmacogenética ya ha alcanzado un nivel de evidencia muy elevado que ha permitido que las agencias reguladoras hayan incluido como requerimiento el análisis farmacogenético para una variante concreta antes de la prescripción de diferentes fármacos. En la ***tabla 7*** se detallan varios ejemplos del uso de la farmacogenética en el tratamiento de algunas enfermedades validados clínicamente y el nivel de recomendación según la FDA. (56)

Tabla 7. Ejemplos de algunos biomarcadores farmacogenéticos validados clínicamente y nivel de recomendación para fármacos relacionados en el contexto de las fichas técnicas de fármacos aprobados por la Agencia de Regulación de los EEUU (FDA). *Fuente: Ref. 56*

Biomarcador farmacogenético	Fármaco	Enfermedad	Clasificación por la FDA	Ficha técnica de la EMA	Objetivo del genotipado
Expresión de CCR5	Maraviroc	Infección VIH	Obligatorio	SÍ	M
Expresión c-KIT	Imatinib	Tumor estromal gastrointestinal	Obligatorio	SÍ	M
CYP2C9, VKORC1	Warfarina	Tromboembolismo	Recomendado	NO	R
Deficiencia de DPD	Capecitabina 5-FU	Cáncer colorrectal	Obligatorio	SÍ	R
Expresión EGFR	Erlotinib	Cáncer de pulmón de célula no pequeña	Obligatorio	SÍ	M
Expresión EGFR más mutaciones en k-ras	Cetuximab panitumumab	Cáncer colorrectal	Obligatorio	SÍ	M
Deficiencia G6PDH	Rasburicasa	Hiperuricemia	Recomendado	SÍ	R
Sobreexpresión HER2	Trastuzumab	Cáncer de mama	Obligatorio	SÍ	M
HLA-B*1502	Carbamazepina fenitoína	Epilepsia	Recomendado	NO	R
HLA-B*5701	Abacavir	Infección por VIH	Recomendado	SÍ	R
Cromosoma Ph+	Dasatinib Imatinib	Leucemia linfoblástica aguda	Obligatorio	SÍ	M
TPMT	Azatioprina mercaptopurina	Leucemia linfoblástica aguda	Recomendado	SÍ	R
UGT1A1	Irinotecán	Cáncer de colon	Recomendado	NO	R

**EMA: Agencia Europa de Medicamentos., M: mejorar eficacia. R: reducir incidencia efectos adversos. VIH: virus de la inmunodeficiencia humana*

2.6. ANÁLISIS ECONÓMICOS PARA EVALUAR LA VIABILIDAD DE LA INCLUSIÓN DE LA FARMACOGENÉTICA EN LA PRACTICA CLÍNICA HABITUAL.

La evaluación económica de medicamentos (farmacoeconomía) se engloba dentro de la evaluación económica de las tecnologías sanitarias, cuyo fin es la selección de aquellas opciones que tengan un impacto sanitario más positivo (57). La evaluación económica es el nombre genérico que se da a un conjunto de procedimientos o técnicas de análisis dirigidos a evaluar el impacto de opciones o cursos de acción alternativos sobre el bienestar de la sociedad (58). Dado que el bienestar no se puede medir directamente, la evaluación económica se centra en la identificación, medida y valoración de los efectos que se supone tienen una relación directa con el bienestar. Se define como el análisis comparativo de las acciones alternativas tanto en términos de costes o efectos sobre los recursos como de efectos sobre la salud (59, 60).

Para que exista una evaluación económica completa tienen que cumplirse dos condiciones: que se comparen dos o más alternativas y que se comparen tanto los efectos sobre los recursos (costes) como los efectos sobre la salud (llamados en ocasiones beneficios o resultados), en la ***Tabla 8*** se hace un resumen.

Tabla 8: Evaluaciones parciales y completas. *Fuente: Ref. 60.*

		¿Se examinan costes y resultados?		
		No		Sí
¿Se comparan dos o más alternativas?	No	Sólo resultados	Sólo costes	Descripción coste-resultado
		Descripción de resultados	Descripción de costes	
	Sí	Evaluación de eficacia o efectividad	Análisis de costes	**Evaluación económica completa**

Existen dos tipos de evaluaciones económicas:

1. Evaluaciones parciales:

Cuando se analiza solo una alternativa o bien se valoran solo los efectos sobre los recursos o los efectos sobre la salud, a pesar de haber analizados varias alternativas. El caso en el que se analiza

una sola alternativa se le conoce como una **descripción**, ya que en esa alternativa se describirán los resultados o los costes.

2. Evaluaciones completas

Se comparan varias alternativas en términos de efectos sobre la salud y sobre los recursos y, dependiendo de la naturaleza de la medida de resultados utilizados (*Health outcomes*) y de los elementos disponibles, las evaluaciones farmacoeconómicas pueden ser de distintos tipos, según se muestra en la ***Tabla 9***:

Tabla 9: Tipos de evaluaciones económicas completas. *Fuente: Ref. 60.*

Tipo de evaluación económica completa	Valoración de los efectos sobre la salud	Valoración de los efectos sobre los recursos
Minimización de costes	Alternativa con igual efecto sobre la salud	Unidades monetarias
Coste-efectividad	Unidades de efectividad	Unidades monetarias
Coste-utilidad	Unidades de efectividad ajustadas por calidad de vida	Unidades monetarias
Coste-beneficio	Unidades monetarias	Unidades monetarias

Como se ha comentado, se pueden hacer varios tipos de análisis siguiendo la tabla anterior:

- ***Análisis de Minimización de Costes*:**

Se comparan dos o más opciones que tienen el mismo efecto sobre la salud, misma eficacia, efectividad, mismos riesgos, mismos efectos secundarios, etc.

- ***Análisis coste-efectividad*:**

Se comparan los efectos sobre la salud y sobre los recursos de dos o más opciones. Los efectos sobre los recursos o costes se valoran en unidades monetarias y los efectos sobre la salud en unidades naturales de efectividad, que dependen de lo que se está evaluando, como por ejemplo en años de vida, supervivencia, disminución de presión en milímetros de mercurio, vómitos, porcentaje de respuesta, etc.

- ***Análisis coste-utilidad:***

Es una evaluación económica similar al análisis de coste-efectividad pero que se diferencia de éste en que la efectividad se ajusta por la calidad de vida. Por lo tanto, se comparan varias alternativas, los efectos sobre los recursos se valoran en unidades monetarias y los efectos sobre la salud se ajustan por la calidad de vida. La unidad que se utiliza con más frecuencia para valorar los efectos sobre la salud en estos estudios son los AVAC o años de vida ajustados por calidad de vida (en inglés QALY o quality-adjusted life year).

- ***Análisis coste-beneficio:***

Tanto los efectos sobre la salud como los efectos sobre los recursos se valoran en unidades monetarias.

Los estudios de farmacogenética y farmacogenómica, permitirían el empleo de la información genética y genómica para prescribir los medicamentos de una manera individualizada, según el polimorfismo genético y la existencia de dianas específicas en la enfermedad. Esto produciría un cambio drástico en la forma de enfocar la prevención y el tratamiento de las enfermedades, ya que sería posible utilizar los medicamentos ya existentes de manera individualizada o estratificada en subgrupos de pacientes. El objetivo de esta práctica sería la obtención de mejores resultados clínicos, con una disminución de la morbimortalidad de los pacientes y una importante reducción de la necesidad de administrar distintos y sucesivos medicamentos hasta encontrar el más eficaz y seguro para cada uno. Como consecuencia, se incrementaría la calidad de vida de los pacientes y se elevaría la calidad asistencial del Sistema Nacional de Salud (SNS).

Además, se optimizarían los recursos disponibles en el SNS debido a que se podrían reducir ciertos costes sanitarios, como son los secundarios al manejo de los efectos adversos de los medicamentos y los derivados de tener que administrar fármacos de segunda línea al no haber respuesta a los tratamientos de primera elección. Por lo tanto, si se conoce previamente cómo puede ser la respuesta al tratamiento y la aparición de efectos adversos no deseables gracias al test genético, se ahorrarían recursos sanitarios al evitar días de estancia hospitalaria y pruebas complementarias, días de utilización del hospital de día para administrar medicación complementaria o alternativa al no responder al tratamiento de primera elección según las guías clínicas, costes derivados de aparición de acontecimientos adversos, etc.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que se requeriría la realización de un test genético a los pacientes, lo que implica un coste adicional, al que se debe sumar el coste de la formación del personal que ha de realizarlo y el coste del tiempo necesario para su adecuada interpretación. Por ello, los estudios económicos pretenden evaluar si este gasto se puede compensar con el

ahorro que supondría a medio-largo plazo en este tipo de pacientes y tratamientos. Las evaluaciones económicas son herramientas clave a la hora de tomar decisiones acertadas y asignar eficientemente los recursos disponibles, ya que permitirán conocer qué opciones son coste-efectivas al producir beneficios terapéuticos adicionales con un consumo de recursos adicional razonable y moderado. De este modo, estas evaluaciones proporcionarán información que nos indique si los estudios de farmacogenética y farmacogenómica serán intervenciones eficientes para nuestra sociedad y el SNS de este país y, por lo tanto, deberían efectuarse de forma sistemática en la práctica clínica habitual.

Si aplicamos los principios de la evaluación económica al mundo de la farmacogenética y la farmacogenómica, estas nuevas tecnologías podrían ser intervenciones coste-efectivas siempre que se cumplan los siguientes requisitos (60):

- **Alta prevalencia del polimorfismo genético** mediante escrutinio en la población, conjuntamente con un elevado grado de penetración.
- **Elevada prevalencia de la enfermedad estudiada**, ya que de esta manera se podrá tratar a un grupo amplio de pacientes.
- **Alto coste de la enfermedad diagnosticada** con el test genético o del manejo de los efectos adversos de los medicamentos empleados en su tratamiento.
- **Estrecha relación entre la variante genética** que se va a diagnosticar **y los resultados clínicos** que se va a obtener (incremento de la eficacia y seguridad).
- **Existencia de tratamientos eficaces** que puedan emplearse tras la realización de estos estudios y que produzcan mejores resultados clínicos que los tratamientos que se usan habitualmente.
- **Elevada sensibilidad y especificidad del test genético**, que sea rápido de efectuar y tenga un coste global razonable (coste del test + visitas adicionales + consejo genético).
- **Ausencia de métodos baratos y fáciles de aplicar para monitorizar la respuesta** y los efectos adversos de los tratamientos disponibles en la actualidad para tratar el trastorno diana.
- **Elevada morbimortalidad y/o importante repercusión en la calidad de vida** de los pacientes que presentan la enfermedad en que se va a efectuar estos estudios.

Por lo tanto, este tipo de estudios podrían ser eficientes en los medicamentos inmunosupresores utilizados tras el trasplante, ya que tienen un estrecho intervalo terapéutico,

una alta variabilidad en la respuesta y una difícil evaluación de ésta. Además, los tratamientos existentes son parcialmente eficaces y producen muchos efectos adversos. Teniendo en cuenta que el trasplante es una situación clínica de elevada prevalencia y alto coste, con una elevada morbimortalidad y que afecta de manera importante a la calidad de vida de los pacientes, la introducción de la farmacogenética como apoyo a la práctica clínica en la toma de decisiones podría evitar que muchos pacientes tomen medicamentos poco o nada eficaces durante años y con riesgo de sufrir acontecimientos adversos derivados de la medicación, así se reducirían los costes y optimizando los recursos

Para concluir, según todo lo comentado anteriormente, el uso de la farmacogenética y su aplicación en la práctica clínica diaria podría incrementar el éxito terapéutico en muchos pacientes y, por lo tanto, la calidad asistencial del SNS mejoraría, a cambio de un pequeño incremento del gasto sanitario. Por lo que el reto consistirá en establecer en qué enfermedades y en qué pacientes deberá realizarse este tipo de estudios en un intento por racionalizar y priorizar la utilización de los recursos públicos destinados al cuidado sanitario. En este cometido, las evaluaciones económicas podrían arrojar algo de luz.

3. JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

El trasplante hepático debe ser considerado en cualquier paciente con enfermedad hepática crónica o aguda en estado avanzado, en los que hayan fracasado otras alternativas terapéuticas. Éste puede suponer un aumento en la esperanza de vida más allá de lo esperado conforme a la enfermedad subyacente, y un aumento en la calidad de vida (CdV) de dicho paciente.

Una vez trasplantados, los pacientes deben tomar varios medicamentos inmunosupresores de manera crónica para evitar el rechazo del injerto, por lo que suelen ser pacientes polimedicados con el consecuente riesgo de interacciones, alteraciones de dosis y efectos adversos que pueden ser graves y conducir al re-trasplante o incluso la muerte. Por todo ello, el gasto sanitario de los pacientes trasplantados es muy elevado, y necesitan un seguimiento clínico durante toda la vida, ya que las posibles complicaciones derivadas del trasplante y la medicación pueden aparecer en cualquier momento.

Dos pacientes pueden responder de forma muy diferente a un mismo fármaco, incluso administrándolo a la misma dosis. Por este motivo, sería de gran utilidad poder predecir qué pacientes van a responder de forma adecuada a la inmunosupresión y cuáles no. Con esto, se podría optimizar la dosis o seleccionar el fármaco más adecuado para cada paciente, evitando así situaciones de sobredosificación y/o falta de eficacia. De este modo, se evitarían gastos innecesarios en medicamentos. Además, esta información genética podría usarse para predecir la evolución del trasplante hepático y prevenir los acontecimientos adversos sufridos por los enfermos, que conllevan un mayor gasto al SNS.

Según la ONT, España sigue siendo líder mundial en trasplantes y en 2022 se realizaron 5383 trasplantes, lo que demuestra la gran actividad en nuestro país y el extraordinario trabajo del Sistema sanitario español. Además, el Hospital La Fe es el centro sanitario español con mayor número de trasplantes hepáticos realizados en la historia, alcanzando la cifra de 3.000 trasplantes realizados hasta septiembre de 2023.

Dada la dilatada trayectoria en este campo, se decidió realizar este estudio farmacogenético del paciente trasplantado hepático con el fin de aportar información en la toma de decisiones en el tratamiento inmunosupresor y optimizar los recursos disponibles. En la actualidad, existen sólidas razones para interpretar parte de las variaciones individuales en la respuesta a los medicamentos como resultado de la variabilidad genética en genes que codifican proteínas que participan en el transporte y metabolización de los fármacos. En este sentido, la

farmacogenética analiza la información genética relacionada con la eficacia y seguridad de los medicamentos, con el fin de ofrecer criterios objetivos para su uso racional.

Se han descrito ampliamente tres grupos de genes implicados en la eficacia del tratamiento farmacológico, donde los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) han cobrado especial interés. Estos son: los transportadores de fármacos, los responsables de su biotransformación y aquellos que codifican proteínas implicadas en el mecanismo de acción del fármaco. Por este motivo, es un campo perfecto para el ajuste individualizado de la terapia inmunosupresora de la forma más precisa posible, y así intentar mitigar la morbilidad de los pacientes, los múltiples efectos adversos que pueden sufrir y también el coste que supondría un fallo en el trasplante.

Finalmente, suscita gran interés realizar una evaluación económica con el fin de evaluar los costes de un paciente trasplantado de hígado, los costes de las pruebas farmacogenéticas realizadas, y los costes derivados de la evolución del trasplante y los eventos ocurridos. Los resultados podrían avalar la futura implementación de la farmacogenética en la toma de decisión del tratamiento óptimo de los enfermos que vayan a ser trasplantados.Con este estudio piloto esperamos aportar algo de luz a este tema y, por tanto, un camino a seguir para futuros proyectos con un mayor tamaño muestral que complementen nuestros resultados y puedan poner de manifiesto el valor de las pruebas farmacogenéticas en los pacientes que van a ser trasplantados de hígado en un futuro.

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los polimorfismos genéticos de los enzimas que intervienen en la biotransformación (metabolismo y detoxificación) de los fármacos y las proteínas que los transportan pueden influir en la evolución clínica del paciente trasplantado hepático y en sus complicaciones post-trasplante. Por lo tanto, la farmacogenética se postula como una herramienta de ayuda en la toma de decisiones para seleccionar el mejor tratamiento para un paciente concreto, pronosticando la aparición de complicaciones y reacciones adversas en los pacientes con TH, y optimizando así los recursos del Sistema Nacional de Salud.

4.2. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

4.2.1. Objetivo principal:

Estudiar la asociación entre la presencia de los polimorfismos genéticos en genes que codifican proteínas transportadoras y de los enzimas de biotransformación de los fármacos utilizados en los pacientes con trasplante hepático, previamente obtenidos, y la evolución clínica de los pacientes en un periodo de 12 años de seguimiento.

4.2.2. Objetivo secundario:

Realizar los pasos preliminares para una evaluación económica sobre la inclusión de pruebas farmacogenéticas para los pacientes que vayan a someterse a trasplante hepático en relación con algunos de los eventos adversos recogidos en el marco del objetivo principal y que teóricamente podríamos evitar con un correcto ajuste del tratamiento guiado farmacogenéticamente.

5. PACIENTES Y MÉTODOS

PACIENTES Y MÉTODOS

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se diseñó un estudio unicéntrico, retrospectivo y observacional de una cohorte de pacientes que fueros trasplantados de hígado entre 2008 y 2009 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, y genotipados por el equipo investigador.

Se contaba pues con los resultados de genotipo de un panel de SNPs que incluyó variantes genéticas localizadas en genes que afectaban el transporte, metabolismo y vías de señalización implicados en los fármacos inmunosupresores, así como en algunos de los fármacos concomitantes habitualmente empleados

En este tipo de pacientes hubo una particularidad y es que en los pacientes con trasplante participaron dos genotipos (del receptor y el donante) distintos. Por estas razones, se incluyó el genotipado tanto del donante como del receptor en el estudio.

La recogida de datos clínicos se realizó retrospectivamente consultando las historias clínicas de los pacientes incluidos y se llevó a cabo un seguimiento detallado de las complicaciones hasta los 12 años tras el trasplante hepático.

Durante los 12 años tras el TH se recogieron datos de la evolución del TH y se evaluó la asociación de la presencia de variantes genéticas en los SNPs seleccionados con la aparición de complicaciones post-trasplante hepático (rechazo, tumores, …). Para terminar, se realizó un análisis económico preliminar donde se estudió los costes derivados de algunas de las complicaciones sufridas, con el fin de determinar la viabilidad de incluir las pruebas farmacogenéticas dentro de la práctica clínica habitual para ayudar en la toma de decisiones.

El presente estudio se diseñó según las normas de Buena Práctica Clínica. Se aprobó por el Comité de Ética del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia y obtuvo la Conformidad de Dirección del centro. (Anexos)

5.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Todos los pacientes del estudio se sometieron a un trasplante hepático en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe (Valencia) en un periodo de tiempo comprendido entre el 13/02/2008 y el 01/12/2009 y se les realizó una prueba farmacogenética tanto a los donantes como a los receptores para determinar los polimorfismos genéticos incluidos en el panel en un estudio autorizado en aquel momento. Todos fueron tratados según el protocolo de inmunosupresión seguido por el hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, sin que la participación en este estudio supusiese modificación alguna del mismo

Se incluyeron de forma consecutiva un total de 79 pacientes trasplantados hepáticos. Se recogieron variables demográficas, bioquímicas, de tratamiento y clínicas, las complicaciones tras el TH, así como las peticiones de pruebas e interconsultas desde el momento del TH hasta 12 años después.

5.2.1. Criterios de inclusión:

- Pacientes con edad igual o superior a 18 años.
- Pacientes trasplantados de hígado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, entre 13/02/2008 y el 01/12/2009 y tratados según el protocolo de inmunosupresión del hospital.
- Pacientes con disponibilidad de datos de los estudios farmacogenéticos.
- Pacientes con disponibilidad de los datos del trasplante, evolución y seguimiento en las historias clínicas del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia.

5.2.2. Criterios de exclusión:

- Menores de 18 años.
- Pacientes trasplantados en los años 2008 a 2009 que no prestaron su consentimiento informado o sin resultados de la calidad adecuada en las pruebas farmacogenéticas y/o sin datos suficientes sobre la evolución del trasplante en la historia clínica.

5.3. MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo, unicéntrico y no aleatorizado.

Se realizó una recogida retrospectiva de datos de 12 años de seguimiento procedentes de las historias clínicas de los pacientes que fueron trasplantados durante el periodo entre 13/02/2008 y el 01/12/2009 en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

5.3.1. Variables analizadas:

Se recogieron los antecedentes clínicos relevantes, los datos en el momento del trasplante hepático y después del trasplante haciendo un seguimiento hasta los 12 años post-trasplante.

- ***Datos demográficos y epidemiológicos:***

Se recogieron los siguientes datos de la historia clínica de los pacientes:

- Edad: se considera la edad del paciente, medida en años, el día de la intervención.
- Sexo: variable dicotómica que define el sexo del paciente (hombre/mujer).
- Peso
- Antecedentes de Hipertensión arterial, *Diabetes mellitus y* tumores.
- Diagnóstico principal para el trasplante hepático: define la causa que origina la enfermedad hepática y es la indicación principal para el trasplante hepático.
- Fecha del trasplante: fecha de realización del TH.
- Estancia hospitalaria hasta el alta tras el trasplante hepático (días)
- Estado del paciente: *exitus* SI/NO, durante el periodo de seguimiento.

Además, al alta del TH y a los 6 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años y a tiempo final (12 años) tras el TH, se recogió la siguiente información:

- Las complicaciones o eventos clínicos tras el trasplante:
  - ✓ Re-trasplante
    - ✓ HTA *de novo*
    - ✓ *DM de novo*
    - ✓ Rechazo de injerto
    - ✓ Infecciones graves (infecciones *de novo* y recidivas de infecciones previas)

- ✓ Neoplasias *de novo*
- ✓ Nefrotoxicidad (aguda y crónica)

La atención médica requerida por los pacientes se recogió en el seguimiento a los 5 años:

- ✓ Urgencias.
- ✓ Pacientes que requieren hospitalización

- ***Determinaciones de laboratorio:***

  Los principales parámetros que se recogieron al alta y a los 6 meses, 1 año, 2 años, 3 años, 4 años y 5 años post-TH fueron: Creatinina (mg/dL), Albúmina (g/dl), GPT, GOT, GGT y Fosfatasa Alcalina, medidas en UI/L.

  Además, se recogieron los valores de linfocitos y neutrófilos a los siguientes tiempos 7 días, 15 días, 1 mes, 2 meses y 3 meses tras el TH.

- ***Determinaciones relacionadas con las complicaciones post-trasplante.***

  - **Comorbilidades asociadas al síndrome metabólico:**

  Análisis de hipertensión arterial *de novo* y D*iabetes Mellitus de novo* desde el trasplante hasta los 12 años de seguimiento. Ambas patologías fueron analizadas según el diagnóstico de práctica clínica habitual.

  - **Infecciones:**

  Análisis de infecciones *de novo* graves desde el trasplante hasta los 12 años de seguimiento, según el diagnóstico de práctica clínica habitual.

  - **Neoplasias *de novo*:**

  Para incidencia tumoral, solo se consideraron aquellos pacientes sin hepatocarcinoma en la cirugía que desarrollasen un tumor *de novo* posteriormente durante el período de seguimiento.

  - **Rechazos del injerto y necesidad de re-trasplante.**

  El diagnóstico de rechazo agudo se determinó mediante biopsia hepática y el diagnóstico histológico se realizó de acuerdo con los criterios de Banff (61).

  - **Nefrotoxicidad:**

  Se analizaron las nefrotoxicidades aguda y crónica a lo largo del periodo de seguimiento.

- ✓ La nefrotoxicidad aguda se definió como un aumento de la creatinina sérica nivel superior a 0,5 mg/dl o 20-25% por encima de la línea de base previa al trasplante, coincidiendo con niveles elevados de tacrólimus en sangre que disminuyen con la reducción de dosis. Se excluyeron otras afecciones que causan insuficiencia renal, como fiebre, infección, inflamación o sensibilidad del injerto, oliguria, sangrado, deshidratación, aumento del índice de resistencia en la ecografía Doppler u obstrucción ureteral.
- ✓ La nefrotoxicidad crónica se diagnosticó en base a criterios clínicos: aclaramiento de creatinina <60 ml/min durante al menos 3 meses, no coincidente con otros parámetros clínicos mencionados anteriormente causantes de insuficiencia renal o uso de otros fármacos nefrotóxicos.

  El aclaramiento de creatinina se calculó utilizando la fórmula COCKCROFT-GAULT, MDRD y la ESTIMACIÓN DEL FILTRADO GLOMERULAR MDR / CKD-EPI, disponibles en la web de la Sociedad Española de Nefrología. (62).

- **Necesidades de atención médicas después del trasplante:**

  Se analizó el número de pacientes que necesitó acudir a urgencias y el número de pacientes que necesitó hospitalización a los 12 años.

5.3.2. Determinaciones genéticas de los polimorfismos estudiados.

Para analizar los genotipos, las variantes se agruparon según la función de las proteínas/enzimas que codificaban los genes estudiados:

- Actividad metabólica: *CYP3A5, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6, MTHFR, UGT1A9.*
- Funciones de transporte: *ABCB1, ABCC2, ABCG2, SLCO1B1, SLCO1A2*
- Estimulación del Sistema Inmune y vías de señalización: *NOD2, TPMT*

Aunque el genotipado no fue realizado en el marco del presente trabajo, sino anteriormente, se expone a continuación de manera resumida cómo se realizó el diseño del panel y el genotipado.

Panel de los SNPs

Los SNPs incluidos en el panel fueron seleccionados según la bibliografía revisada, teniendo en cuenta los estudios que asociaban los genes con eventos clínicos en pacientes que habían sido trasplantados de hígado. Se añadieron otros polimorfismos de genes que codifican transportadores de fármacos y otras vías de señalización relevantes. En la **tabla 10** se resumen los SNPs incluidos en el panel de farmacogenética y que fueron analizados en este trabajo.

Identificación de los SNPs

El genotipo de los SNPs se realizó utilizando la plataforma de MassArray de Sequenom, en el SCSIE (Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental) de la Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se recogió el ADN genómico de sangre entera anticoagulada con EDTA de los receptores y de los donantes, gracias a la colaboración de la Unidad de Cirugía Hepatobiliopancreática y la Coordinación de Trasplantes del Hospital La Fe.

Se extrajo el ADN de 200 µL de sangre utilizando un kit disponible comercialmente basado en la centrifugación de microcolumnas (UltraCleanBloodSpin DNA Isolation Kit; MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, California). Después se evaluó la calidad y cantidad del ADN utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, Delaware) y posteriormente, se almacenó el ADN a -20ºC hasta su uso. Todas las muestras fueron genotipadas por triplicado para evaluar la calidad de la técnica.

En la **tabla 10** se resumen los SNPs estudiados en el trabajo.

Tabla 10: SNPs incluidos dentro del panel de farmacogenética estudiados en el trabajo

Gen	Función	SNP
ABCB1	Transportador	rs1045642 rs2235013 rs1128503 rs2235033 rs2032582 rs3213619 rs229109 rs9282564
ABCC2	Transportador	rs3740066 rs717620 rs2273697
ABCG2	Transportador	rs2231137 rs2231142
CYP2B6	Metabolizador	rs2279343 rs3745274
CYP2C19	Metabolizador	rs4244285
CYP2C9	Metabolizador	rs1799853 rs1057910
CYP3A4	Metabolizador	rs2740574
CYP3A5	Metabolizador	rs41303343 rs776746 rs10264272
MTHFR	Metabolizador	rs1801131 rs1801133
NOD2	Vía de señalización	rs2066844 rs2066845
SLCO1A2	Transportador	rs11568564 rs72559749 rs11568563
SLCO1B1	Transportador	rs2306283 rs4149056
TPMT	Vía de señalización	rs1142345 rs1800462 rs1800460
UGT1A9	Metabolizador	rs17868320 rs72551330 rs6714486

5.3.3. Análisis estadístico.

En este trabajo los análisis estadísticos se realizaron con los programas informáticos SPSS (versión 26; IBM; Nueva York, NY, EE. UU.) y R Studio (versión 1.4.1106; Boston, MA, EE. UU.). Se empleó regresión logística multivariante para evaluar la asociación de variantes genéticas con el riesgo de exitus e incidencia tumoral durante el período de seguimiento. Todas las variantes de genes se incluyeron como variables; la edad, el sexo, la hepatitis, el carcinoma hepatocelular y la cirrosis se incluyeron como co-variables.

Se calculó el cociente de riesgos instantáneos (HR) y el intervalo de confianza (IC) del 95 % para los resultados en sujetos con todas las variantes para evaluar asociaciones.

La regresión logística para evaluar la incidencia tumoral y de supervivencia se realizó por pasos con el software SPSS con tasa de descubrimiento falso (FDR), empleando los valores de p obtenidos para las variantes génicas asociadas con las pruebas de regresión logística y de Cox halladas tanto en el exitus como en el tumor. Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

La evolución temporal del exitus y la prevalencia del cáncer durante el seguimiento con las variantes genéticas significativas seleccionadas por regresión logística y FDR fue representado por curvas de Kaplan-Meier, diseñado en el software R Studio. La significación se determinó mediante análisis de rango logarítmico.

Para aquellas variantes farmacogenéticas asociadas con los eventos clínicos, se realizaron análisis de contingencia de Fisher y chi-cuadrado dependiendo de la presencia de dos o tres posibles genotipos, respectivamente. Esto permitió reconfirmar las asociaciones con mayor evidencia científica.

5.3.4. Análisis económico preliminar:

Se decidió realizar un estudio económico preliminar con el fin de estimar cuánto dinero podrían ahorrar las pruebas farmacogenéticas realizadas antes del trasplante hepático en relación a hipotéticamente poder prevenir los costes derivados de la ineficacia de los fármacos inmunosupresores y de sus efectos adversos.

Este análisis se realizó desde el punto de vista del sistema sanitario con el objetivo de evaluar la viabilidad de la realización de las pruebas genéticas previas al trasplante, ya que la correlación entre las pruebas genéticas con las ineficacias/complicaciones y sus gastos derivados, podría ser una información muy útil para los clínicos a la hora de predecir dichos acontecimientos y tratar de manera adecuada al paciente que sea considerado “de riesgo”.

Para realizar esta evaluación, se contó con los 79 pacientes incluidos en el estudio y el horizonte temporal fue entre el día en el que se realiza el TH hasta un seguimiento a los 12 años siguientes.

En este caso, se ha realizado una aproximación muy sencilla que sería simplemente un estudio preliminar para un futuro análisis de coste-beneficio, un tipo de análisis económico completo en la que tanto los efectos sobre la salud como los efectos sobre los recursos se valoran en unidades monetarias. Con este análisis se decidiría si la prueba farmacogenética se debería llevar a cabo. Esto sería si el beneficio neto (diferencia entre los beneficios entre ambas alternativas) fuera superior a los costes netos (diferencia entre los costes de ambas alternativas), ya que se incrementaría el bienestar global de la sociedad optimizando los costes.

Para ello, con los resultados correspondientes al Objetivo Principal, es decir con aquellas asociaciones encontradas entre variantes genéticas y resultados clínicos adversos, se realizó una búsqueda muy concreta en la literatura, con el fin de encontrar estudios publicados en España, donde se obtuviese el coste económico de esos resultados clínicos adversos.

Una vez obtenida esta información, se procedió a calcular el coste para cada uno de esos resultados adversos en nuestra cohorte de pacientes, sabiendo en base a nuestra recogida de datos, cuántos de los pacientes habían padecido realmente ese resultado adverso y cuántos no.

Esta aproximación inicial a un estudio farmacoeconómico, que conforma el objetivo secundario de la presente tesis, nos ha de dar una idea, de cuánto dinero podríamos ahorrar al SNS, si lográsemos evitar ese resultado adverso, conociendo de antemano la variante genética relacionada con el mismo, que portan los pacientes.

6. RESULTADOS

RESULTADOS

6.1. CRIBADO DE LOS PACIENTES INCLUIDOS

Se obtuvieron datos de 87 pacientes iniciales que fueron trasplantados de hígado en el hospital La Fe de Valencia entre febrero 2008 y diciembre 2009 mediante una búsqueda en las historias clínicas electrónicas. Sin embargo, de esos 87 pacientes, sólo 79 cumplieron los criterios de selección para ser incluidos en el estudio debido a que el genotipo de alguno de ellos no estaba completo o que el seguimiento se detuvo demasiado pronto (< 6 meses). Se analizaron los datos de estos 79 pacientes en el momento del alta hospitalaria y se realizó un seguimiento hasta a los 12 años post-trasplante.

Los datos se recogieron a distintos tiempos, considerando como tiempo basal (día 0) el día del trasplante hepático. De este modo, se obtuvo información desde el alta hospitalaria tras el trasplante hepático hasta los 12 años tras el trasplante.

6.2. DATOS DEMOGRÁFICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS.

Se analizaron las variables demográficas y epidemiológicas de los pacientes del estudio.

Las características demográficas de la población estudiada quedan recogidas en la ***Tabla 11.***

Tabla 11: Características demográficas de la población estudiada (79 pacientes).

Características demográficas	**Promedio ± SD**	**%**
Edad en el momento del trasplante hepático (años)	54.65 ± 10.24	
Sexo • Número de Hombres • Número de Mujeres	 55 24	 69.62 30.38
Peso (kg)	74.90 ± 13.10	
Diagnóstico principal para el trasplante hepático (número): • Cirrosis • Virus de Hepatitis C (VHC) • Carcinoma hepatocelular (HCC) *pueden coexistir varios diagnósticos en un mismo paciente	 70 37 31	 88.61 46.84 39.24
Estancia hospitalaria tras el trasplante hepático (días) hasta el alta	24.14 ± 43.07	
Estado del paciente durante el seguimiento de 12 años • Número de Exitus • Años a los que se produjo del exitus tras el trasplante	 26 9.22 ± 3.97	 32.91

Las complicaciones y eventos clínicos tras el trasplante hepático de los pacientes analizados se recogen en la ***Tabla 12***, ordenada según el número de pacientes que desarrollaron el evento clínico.

Tabla 12: Complicaciones y eventos clínicos durante el periodo de seguimiento tras el trasplante hepático desde el alta hasta los 12 años de seguimiento.

Complicaciones y eventos clínicos	**Nº de pacientes**	**%**
Infecciones	46	58.23
Rechazo del injerto	36	45.57
Hipertensión arterial *de novo*	29	36.71
Nefrotoxicidad aguda	28	35.44
Diabetes mellitus tipo II de novo	27	34.18
Nefrotoxicidad crónica	24	30.38
Tumor *de novo*	15	18.99
Re- trasplante	5	6.33

Los datos de la atención médica requerida por los pacientes (visita a urgencias y necesidad de hospitalización) durante el periodo de seguimiento se recogen en la ***Tabla 13***.

Tabla 13: ***Datos de la atención médica requerida por los pacientes (visita a urgencias y necesidad de hospitalización) durante el periodo de seguimiento de 12 años.***

Atención médica requerida	**Número de Pacientes**	**% de la muestra**	**Promedio de veces que han acudido a la atención requerida ± SD**
Pacientes que han acudido a urgencias	58	73.42	7.17 ± 9.49
Pacientes que requieren hospitalización	68	86.08	4.81 ± 4.15

En el caso del tratamiento tras el trasplante, la terapia inmunosupresora recibida por los pacientes fue la siguiente:

Tacrólimus (Prograf®, Astellas Pharma Inc., Madrid, España), se administró por primera vez por vía oral dentro de las 24 h posteriores a la cirugía, a menos que hubiera alguna complicación clínica, en una dosis inicial de 0,1 mg/kg/día, administrado en dos dosis. La dosificación se ajustó para lograr el rango óptimo, establecido entre 10 y 15 ng/mL durante los primeros 3 meses, 5 y 15 ng/mL hasta 12 meses y entre 5 y 10 ng/ml a partir de entonces.

La Metilprednisolona (10 mg/kg) (Urbason® 20 mg polvo y disolvente para solución inyectable, LABORATORIO SANOFI-AVENTIS S.A, Barcelona, España) se administró por vía intravenosa durante la cirugía. Después, en general, la dosis se redujo gradualmente y se cambió a prednisolona 20 mg administrada por vía oral 1 semana después de la cirugía. La dosis de prednisolona se disminuyó gradualmente y se suspendió cuando fue clínicamente posible, ese tiempo osciló entre 0 y 6 meses después del trasplante hepático.

También se administró micofenolato de mofetilo (MMF) (CellCept® 500mg comprimidos recubiertos con película, LABORATORIO ROCHE FARMA, Basilea, Suiza) a pacientes diabéticos que recibieron dosis bajas de esteroides, pacientes con infección por el virus de la hepatitis C (VHC) y aquellos con insuficiencia renal durante el tratamiento con inhibidores de la calcineurina. El MMF se administró por vía oral a una dosis fija de 1-1,5 g/día.

Se utilizó Azatioprina (1,2 mg/kg/día) (Imurel® 50 mg comprimidos recubiertos con película, LABORATORIO TEOFARMA S.r.l., Pavia, Italia) en combinación con corticoides en pacientes con hepatitis autoinmune o cirrosis biliar primaria. En la muestra analizada en este estudio sólo 3 pacientes recibieron Azatioprina al alta, todos los pacientes tuvieron una pauta combinada de Prednisona 20mg/día, Azatioprina 75mg/día y Tacrólimus, la dosis de Tacrólimus fue distinta en cada paciente: 1,5mg/día, 6mg/12h y 2,5mg/12h, respectivamente.

Cabe destacar que estos tres pacientes sufrieron la misma complicación al alta que consistió en la disfunción del injerto en las primeras 24 horas del trasplante, en todos los casos se solucionó con tratamiento farmacológico, en uno de ellos con la administración de 2 bolos del Metilprednisolona y en los otros dos con la perfusión de Alprostadilo.

Los receptores con insuficiencia renal aguda recibieron dos dosis de 20 mg de basiliximab IV (Novartis, East Hanover, NJ, EE. UU.) dentro de las 6 horas post trasplante y el día 4 después del trasplante.

6.3. ANÁLISIS DE LAS COMPLICACIONES POST-TRASPLANTE HEPÁTICO Y SU RELACIÓN CON LOS SNPs.

6.3.1. Comorbilidades asociadas al síndrome metabólico:

Se determinó la instauración de hipertensión arterial *de novo* y D*iabetes Mellitus de novo* desde el trasplante hasta los 12 años de seguimiento. Ambas patologías fueron diagnosticadas según práctica clínica habitual.

La asociación de las variantes farmacogenéticas con estas variables fue evaluada por regresión logística. Como estas patologías también están presentes en la población general de similares características demográficas como la edad, se empleó un análisis estadístico más restrictivo incluyendo estas como co-variables, para excluir posibles sesgos y garantizar la evaluación de la asociación de variables farmacogenéticas. Se incluyeron como variables los genotipos de todos los SNP y el sexo y la edad como co-variables. Para las variables seleccionadas se realizaron análisis de contingencia (Fisher o chi-cuadrado) para calcular sus p-valores y determinar las diferencias entre grupos.

Al incluir todos los SNP como variables, el análisis es muy exigente a la hora de seleccionar variables con asociación significativa (especialmente en cohortes no muy grandes y con el elevado número de variables que manejamos) y no encontramos asociación significativa de variantes farmacogenéticas con hipertensión arterial. Sin embargo, sí se encontró que la variante CA en el gen *SLCO1A2* rs11568563 del receptor fue estadísticamente asociado a un menor riesgo (OR: 0,705; p-valor = 0,002) de padecer D*iabetes mellitus tipo II de novo*. ***(Tabla 14)***

Tabla 14: Variantes farmacogenéticas asociadas a comorbilidades asociadas al síndrome metabólico (Hipertensión arterial de novo y Diabetes mellitus tipo II de novo), análisis por regresión logística. Panel completo de los resultados estadísticos al analizar con todos los SNPs.

Todos los SNPs							
	Gen	***SNP***	***D/R***	***Genotipo***	***n***	***%***	***OR***
Diabetes mellitus tipo II de novo	*SLCO1A2*	*rs11568563*	*R*	*CA**	*15*	*18.99*	*0.705*

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; n: número de pacientes con el genotipo indicado; % proporción de pacientes con el genotipo indicado dentro de la población. * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

Para determinar el papel de las variantes genéticas según su función, se estudiaron por separado los SNPs localizados en genes que codifican proteínas transportadoras (*ABC y SLCO*), por un lado, y aquellos que codifican proteínas metabolizadoras y de vías de señalización (*CYP, UGT, TPMT, MTHFR, NOD2*), por el otro. Con este análisis, se incluyeron menos variables y, por lo tanto, la penalización aplicada fue menor, además, se realizó un análisis de contingencia para reconfirmar el resultado y obtener valores de p, estos resultados permitieron observar más asociaciones, reflejadas en la **Tabla 15.**

***Tabla 15: Variantes farmacogenéticas localizadas en genes que codifican proteínas transportadoras asociadas a las variables clínicas seleccionadas tras su análisis mediante regresión logística multivariada*.**

SNPs de Genes trasportadores							
Variables clínicas					**Enfermedad *de novo* (*n*)**		
	Gen	SNP	D/R	Genotipo	Ausencia	Presencia	OR
Diabetes mellitus	*SLCO1A2*	*rs11568563*	R	AA CA*	37 15	27 0	- 0.550
	ABCG2	*rs2231142*	R	C CA	48 4	21 6	- 1.008
	ABCB1	*rs1128503*	D	C CT TT	15 28 9	12 8 7	- 0.922 -
		rs2032582	D	GT G TT	28 20 4	10 11 6	- - 1.063
Hipertensión arterial	*ABCB1*	*rs1045642*	R	TC CC TT*	27 7 16	15 11 3	- - 0.976
		rs1128503	R	CT CC TT*	29 9 12	20 8 1	- - 0.859
		rs229109	R	GA AA GG*	1 2 47	4 3 22	- - 0.857
	ABCC2	*rs2273697*	R	GG AA GA	29 3 18	23 2 4	- - 0.942

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

En la Tabla 15 podemos ver que en la variable clínica *Diabetes mellitus de novo*, se confirmó la asociación de la variante CA en rs11568563 *(SLCO1A2)* del receptor con la ausencia de enfermedad con un menor OR (0,550; valor de p = 0,002), puesto que ninguno de los pacientes con la variante CA (n: 15) presentaron *diabetes mellitus* durante los 12 años posteriores al trasplante. En cambio, los pacientes con la variante AA (n: 64) en este SNP se distribuyeron de manera no significativamente diferente entre presencia (n: 27) o ausencia (n: 37) de enfermedad.

La variante CA en el SNP rs2231142 del gen *ABCG2* del receptor se asoció con un riesgo ligeramente mayor (OR: 1,008; p-value = 0,082) de *DM2*.

Dos variantes en dos SNP del gen *ABCB1* en el donante se relacionaron con DM2; la variante CT en el rs1128503 presentó menor riesgo (OR: 0,922; p-valor = 0,122) de padecer la enfermedad y la variante TT en rs2032582 presentó un riesgo ligeramente mayor (OR: 1,063; p-value = 0,133), pero ninguno de estos resultados fue estadísticamente significativo.

En el caso de la *Hipertensión arterial de novo,* encontramos asociaciones de variantes en los genes *ABCB1 y ABCC2* del receptor con menor riesgo de padecer la enfermedad. En el gen *ABCB1*, la variante TT en rs1045642 (valor p = 0,017) y en el rs1128503 (valor p = 0,054. En *ABCC2*, la variante GA en el SNP rs2273697 (p-valor = 0,103) mostró un OR de 0,942.

6.3.2. Nefrotoxicidad crónica y aguda

En relación con la Nefrotoxicidad crónica, que afectó al 30% de nuestra cohorte, el análisis estadístico determinó que dos variantes en el gen *ABCC2* se asociaron significativamente con un riesgo reducido de desarrollar esta patología aun considerando todos los SNPs del panel en el análisis estadístico (lo que aumentaba la penalización del modelo). Estas variantes fueron CT en rs374066 y TC en rs717620, ambas en el receptor, que presentaron OR de 0,920 (p-valor = 0,017) y 0,878 (p-valor = 0,012), respectivamente **(Tabla 16).**

Tabla 16: Variantes farmacogenéticas asociadas a nefrotoxicidad crónica, análisis por regresión logística. Panel completo con todos los SNP.

Todos los SNPs							
	Gen	***SNP***	***D/R***	***Genotipo***	***n***	***%***	***OR***
Nefrotoxicidad crónica	*ABCC2*	*rs3740066*	R	CT*	39	49.37	0.920
		rs717620	R	TC*	29	36.71	0.878

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; n: número de pacientes con el genotipo indicado; % proporción de pacientes con el genotipo indicado dentro de la población. * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

Como en las variables clínicas anteriores, también se estudiaron por bloques los SNPs localizados en genes que codifican proteínas transportadoras (*ABC y SLCO*) y en genes que codifican proteínas metabolizadoras y proteínas de la vía de señalización (*CYP, UGT, TPMT, MTHFR, NOD2*). De nuevo, con este análisis, se obtuvieron más asociaciones o las mismas, pero con mayor efecto tanto para la nefrotoxicidad crónica como para la aguda, reflejadas en la **Tabla 17**.

Tabla 17: Variantes farmacogenéticas de transportadores asociadas a nefrotoxicidad crónica y aguda mediante regresión logística multivariada con agrupación de variantes genéticas según el tipo de proteína que codifican.

SNPs de Genes trasportadores							
Variables clínicas					**Enfermedad *de novo* (*n*)**		
	Gen	SNP	D/R	Genotipo	Ausencia	Presencia	OR
Nefrotoxicidad crónica	*ABCC2*	*rs3740066*	R	CC CT* TT	15 33 7	12 6 6	- 0.831 -
		rs717620	R	CC TC* TT	27 26 2	20 3 1	- 0.784 -
Nefrotoxicidad aguda	*ABCB1*	*rs1045642*	D	CC TC TT*	11 27 13	10 17 1	- - 0.916

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

La variante CT en *ABCC2* rs3740066 (OR 0,831; p-valor = 0,017) y la variante TC en *ABCC2* rs717620 en receptor presentan un menor riesgo de padecer la enfermedad. En el caso de la nefrotoxicidad aguda, solo la variante TT en el SNP rs1045642 del gen *ABCB1* del donante presentó asociación (p-value = 0,040) con una disminución del riesgo de padecer nefrotoxicidad aguda, con un odds ratio de 0,916.

6.3.3. Infecciones

Cuando se analizan las infecciones graves en los pacientes de nuestra muestra, que afectan al 58.23% de los pacientes, el análisis estadístico determinó que solo la variante GA en el rs2279343 del gen *CYP2B6* del receptor fue seleccionada como una variante predictiva de mayor riesgo de infección (OR: 1.116), según el análisis de regresión logística multivariable (**Tabla 18**).

Tabla 18: Variantes farmacogenéticas asociadas a las infecciones graves, análisis por regresión logística multivarable. Panel completo con todos los SNP.

Todos los SNPs							
	Gen	***SNP***	***D/R***	***Genotipo***	***n***	***%***	***OR***
Infecciones	*CYP2B6*	*rs2279343*	*R*	*GA*	*35*	*44.30*	*1.116*

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; n: número de pacientes con el genotipo indicado; % proporción de pacientes con el genotipo indicado dentro de la población. * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

Al realizar un nuevo análisis (test de contingencia) con la selección de los SNPs según la función de la proteína codificada por el gen en el que se encuentran, se obtuvo un p-valor de 0.084 que, aunque no es un valor significativo, es suficientemente bajo como para considerar la asociación como relevante. (**Tabla 19**).

Tabla 19: Variantes farmacogenéticas de genes de proteínas metabolizadoras asociadas a infecciones mediante regresión logística multivariada.

SNPs de Genes metabolizadores							
Variables clínicas					**Enfermedad *de novo* (*n*)**		
	Gen	SNP	D/R	Genotipo	Ausencia	Presencia	OR
Infecciones	*CYP2B6*	*rs2279343*	R	AA GA GG	18 8 6	18 27 2	- 1.240 -

*SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; * p-valor significativo (<0.05) después del análisis de contingencia.*

6.3.4. Tumores

Dentro de los tumores que se desarrollaron tras el TH, se diferenciaron en tumores *de novo* (que fueron detectados y diagnosticados por primera vez tras el TH) y las recidivas del tumor previo al trasplante (Cáncer hepatocelular y Tumor neuroendocrino).

Ocurrieron 6 recidivas de tumores previos, se observó que 4 pacientes presentaron una recidiva del hepatocarcinoma (HCC) previo al trasplante hepático y que, a su vez, todos estos estaban asociados con el Virus de la Hepatitis C (VHC). Y 2 pacientes sufrieron una recidiva de un tumor neuroendocrino. Estos 6 pacientes no se consideraron para el análisis estadístico de asociación con las variantes farmacogenéticas puesto que la aparición del tumor no estaría relacionada con el tratamiento farmacológico post-TH.

El resto de los tumores detectados (15) fueron tumores *de novo* de distinta etiología.

En la **tabla 20** se detallan todos los tumores detectados en la muestra de estudio.

En la primera columna se detalla el tipo de tumor y en la segunda columna en número de pacientes que desarrollaron el tumor. En la tercera columna se refleja el cuántos tumores de ese tipo han padecido los pacientes con tumor *de novo* expresado en porcentaje, por ejemplo, de los 15 pacientes que desarrollaron tumores *de novo*, uno de ellos desarrolló un tumor vesical, si se expresa en porcentaje se observa que el tumor vesical supone el 6,67% de la muestra total que desarrolló tumores *de novo.* Finalmente, en el caso de la cuarta columna se muestra el porcentaje de los pacientes con ese tipo de tumor teniendo en cuenta el total de la muestra obtenida (pacientes con y sin tumor *de novo*), así por ejemplo el tumor vesical *de novo* supondría un 1,26% de la muestra total analizada.

Tabla 20. Tumores detectados en los 79 sujetos

Tipo de tumores	N	N/15 (%)	N/79 (%)
Recidiva de Cáncer Hepatocelular	4	-	5,06
Recidiva tumor neuroendocrino	2	-	2,53
Vesical	1	6,67	1,26
Pulmón	5	33,33	6,32
Basocelular	2	13,33	2,53
Páncreas	1	6,67	1,26
Esófago	1	6,67	1,26
Orofaríngeo	1	6,67	1,26
Cáncer Hepatocelular *de novo*	1	6,67	1,26
Otros	3	20	3,79

Por lo tanto, el 26,58% (21 pacientes) de los pacientes en la muestra analizada desarrollaron tumor después del trasplante hepático. De los tumores desarrollados, el 71,43% (15 pacientes) fueron tumores *de novo* frente a un 28,57% (6 pacientes) que fueron recidivas de tumores previos.

Respecto a las recidivas de tumores previos, las recidivas de Cáncer Hepatocelular supusieron un 19.05% frente a la recidiva de tumor neuroendocrino que fueron un 9.52%.En una representación gráfica de los tumores desarrollados tras el trasplante se puede apreciar más fácilmente los resultados obtenidos (**Figura 4**).

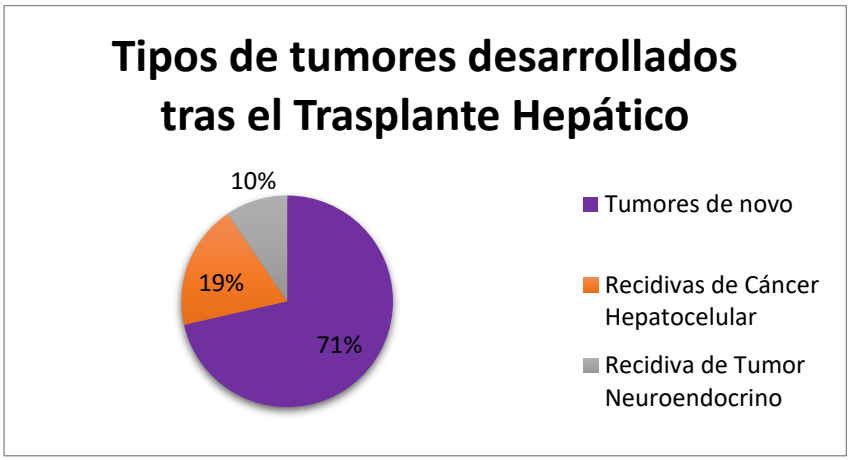

Figura 4: Tipos de tumores desarrollados tras el Trasplante Hepático

Cuando detallamos gráficamente los tumores *de novo* que se detectaron, se puede percibir la frecuencia con la que se han diagnosticado los distintos tipos de tumores (**Figura 5**).

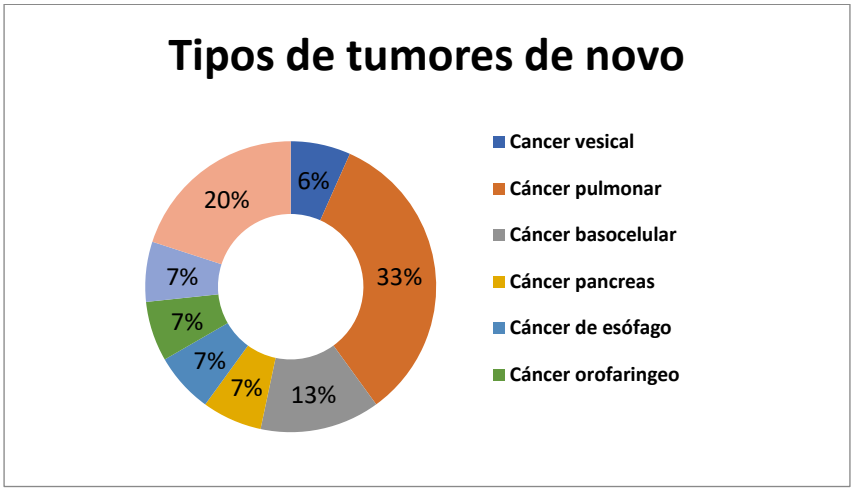

Figura 5: Tipos de tumores de novo tras el Trasplante Hepático

Analizamos las características de los pacientes que desarrollaron tumores tras el TH y pudimos observar que, al momento de detectarse el tumor, la edad media fue de 59,5 años (rango 29-71).

La relación entre el genotipo y el riesgo de incidencia de tumores postrasplante fue también evaluada a los 12 años de seguimiento mediante regresión logística multivariable.

En el análisis estadístico se consideraron todas las variantes de SNPs del donante y receptor, como variables, y el sexo, edad, hepatitis y hepatocarcinoma, como co-variables.

Después de la corrección del p-valor utilizando *FDR (false discovery rate*) empleando los p-valores de las diferentes variantes genéticas seleccionadas, solo la variante TT en *UGT1A9* rs6714486 del receptor obtuvo resultados estadísticamente significativos, con una p = 0.032. Ésta se relacionó con una menor probabilidad de aparición de tumor (HR: 0,13). (**Tabla 21**)

Tabla 21: Variantes farmacogenéticas asociadas significativamente con la incidencia de tumores después del cálculo de FDR y regresión logística.

				Modelo (Regresión logística)				**IC (95%)**	
Gen	**SNP**	**D/R**	**Genotipo**	**R2 Cox Snell**	**R2 Nagelkerke**	**p-Valu e**	**HR**	**Valor más bajo**	**Valor más alto**
UGT1A9	rs6714486	R	TT	0.248	0.399	0.032	0.13	0.030	0.583

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; HR: Hazard ratio; CI: intervalo de confianza.

La incidencia de tumores a lo largo del tiempo en los pacientes con tumores *de novo* se representó mediante una curva de Kaplan-Meier (**Figura 6**) según la variante genética del SNP con asociación significativa que presentaban. Esta variante también resultó estadísticamente significativa (valor p = 0,00062) cuando se analizó individualmente por log-rank.

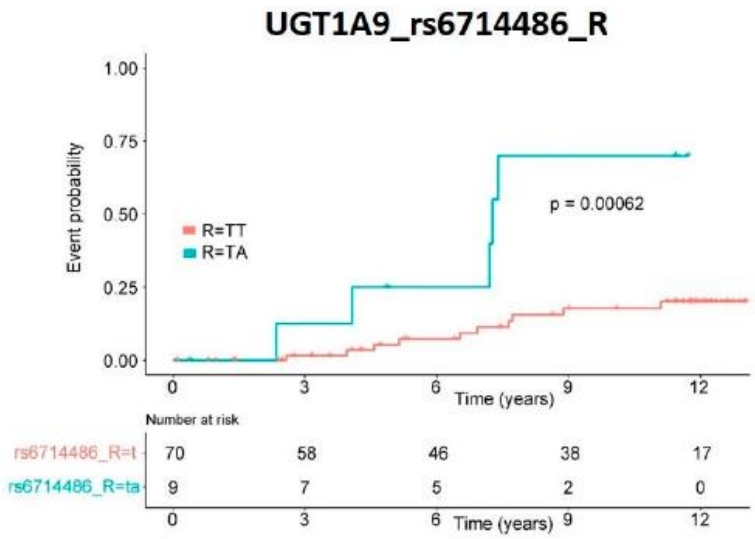

Figura 6: Riesgo de cáncer de novo. Representación de Kaplan-Meier del riesgo de los pacientes de aparición de cáncer de novo, según las variantes genéticas UGT1A9 rs6714486 del receptor.

En cambio, al realizar el análisis estadístico con la Regresión de Cox, que tiene en cuenta la probabilidad de aparición de un evento y el tiempo, se obtuvieron los resultados expuestos en la **tabla 22.**

Tabla 22: Análisis con la Regresión de Cox para evaluar la relación entre variantes genéticas y aparición de tumor tras el trasplante.

				Cox Regression		IC (95%)	
Gen	**SNP**	**D/R**	**Genotipo**	**Chi2**	**OR**	**Valor más bajo**	**Valor más alto**
CYP2C19	rs4244285	R	GA	44.065	5.189	1.032	26.09
CYP3A5	rs10264272	D	GG	44.065	35.08	3.178	387.27
ABCB1	rs9282564	D	AG	44.065	0.138	0.031	0.616

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; CI: intervalo de confianza.

Lo más destacable es que, según nuestros resultados, un paciente que recibiera un hígado de un donante con la variante GG en *CYP3A5* rs10264272 tendría 35 veces más probabilidad de desarrollar un tumor, pero en nuestra muestra solo existía un paciente con esta variante, por lo que debemos tomar este resultado con cautela.

6.3.5. Supervivencia

En el caso de la supervivencia, se evaluó el estado de los pacientes tras los 12 años del trasplante, si habían fallecido o estaban vivos. Con esta información se evaluó la relación entre variantes farmacogenéticas y la supervivencia a los 12 años tras el trasplante hepático mediante un análisis de regresión de Cox. En el análisis se incluyeron como variables todas las variantes de SNPs y se incluyeron la edad, el sexo, la hepatitis C y el hepatocarcinoma como co-variables. En la **tabla 23** se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 23: Variantes farmacogenéticas asociadas significativamente con tasas de supervivencia, después del cálculo de FDR y regresión de Cox.

				Modelo (Regresión logística)				**IC (95%)**	
Gen	**SNP**	**D/R**	**Genotipo**	**R2 Cox Snell**	**R2 Nagelkerke**	**p-Valor**	**OR**	**Valor más bajo**	**Valor más alto**
MTHFR	rs1801131	R	CC	0.294	0.409	0.036	7.34	1.39	38.70
MTHFR	rs1801133	D	TT	0.294	0.409	0.032	7.90	1.67	37.43

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donante; R: receptor; OR: odds ratio; CI: intervalo de confianza.

Después de la corrección del p-valor utilizando *FDR (false discovery rate*) sobre los p-valores de las diferentes variantes genéticas seleccionadas, sólo la variante CC en *MTHFR* rs1801131 del receptor y la variante TT en *MTHFR* rs1801133 del donante se relacionaron significativamente con una mayor mortalidad (p = 0,036 y p = 0,032, respectivamente), con odds ratios de 7,34 y 7,90, respectivamente.

El papel individual de estas variantes en la supervivencia de los pacientes se representó gráficamente mediante la curva de Kaplan-Meier (**Figura 7**), y la significación se midió por rango logarítmico. Solo la variante CC en *MTHFR* rs1801131 del receptor demostró diferencias significativas (p = 0,013) en la tasa de supervivencia.

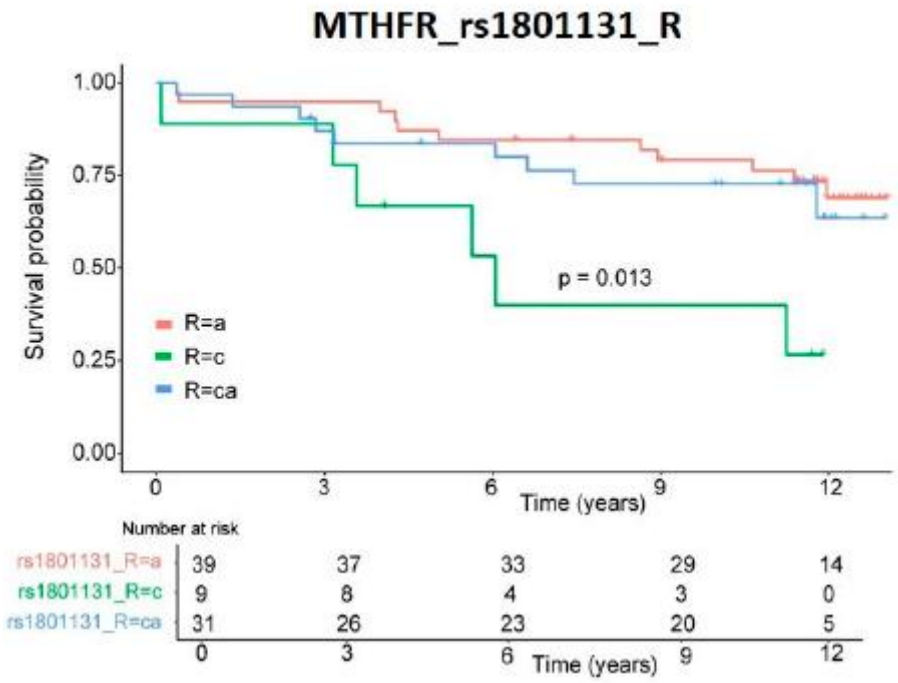

Figura 7: Tasa de supervivencia. Representación de Kaplan-Meier de la tasa de supervivencia de los pacientes en función de las variantes genéticas del SNP del Receptor MTHFR rs1801133, mediante el análisis de log-rank.

6.4. ESTUDIO ECONÓMICO PRELIMINAR PARA EVALUAR EL POSIBLE INTERÉS DE REALIZAR UN PRÓXIMO ANÁLISIS FARMACOECONÓMICO EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO.

Se decidió realizar un estudio económico preliminar para responder a la siguiente pregunta: ¿El uso de las pruebas farmacogenéticas realizadas antes del TH podrían ahorrar costes derivados de la evolución de estos pacientes tras el mismo?

Este análisis se realizó desde el punto de vista del sistema sanitario con el objetivo de evaluar el interés de la realización de las pruebas genéticas previas al trasplante. Considerando que la correlación entre las pruebas genéticas con las ineficacias/complicaciones y sus gastos derivados, podría ser una información muy útil para que los clínicos pudieran predecir dichos acontecimientos y tratar de manera adecuada al paciente.

Para realizar esta evaluación, se contó con los 79 pacientes incluidos en el estudio y el horizonte temporal fue el incluido entre el día en el que se realizó el TH y los siguientes 12 años.

En este caso se realizó la aproximación teórica y la evaluación económica teniendo en cuenta fuentes bibliográficas donde se aportaba información sobre los costes de los eventos analizados en el estudio, en España. De este modo se buscaron en la literatura publicaciones sobre costes de tres de los resultados clínicos adversos post-transplante analizados en el estudio: Hipertensión arterial de novo, nefrotoxicidad, y aparición de tumores *de novo* (63, 64, 65). Teniendo en cuenta el número de pacientes de nuestra cohorte que manifestaron estos tres eventos clínicos, y habiéndolos relacionados previamente con genotipos que suponían una protección o un mayor riesgo de padecer el evento, se planteó hacer una relación teórica con los costes por paciente descritos en la literatura.

Se decidió realizar esta aproximación de costes con la información encontrada en la literatura (63, 64, 65), ya que los eventos estudiados eran complejos e implicaban muchos costes directos e indirectos que no se contemplaron en la recogida de datos realizada.
La única pretensión ha sido demostrar que efectivamente existe un incremento de costes asociados al evento clínico adverso, que en el caso de confirmarse que está correlacionado con la variante genética, podrá servir en un futuro para conocer de antemano qué pacientes están en riesgo y tratar de evitar en ellos ese desenlace clínico adverso.

Si analizamos el evento de **Hipertensión arterial *de novo*** en los pacientes estudiados de nuestra cohorte, se observó que el gen *ABCB1*, en la variante TT en *rs1045642* y en el *rs1128503,* se asociaron significativamente con un menor riesgo de sufrir la enfermedad. Y según la bibliografía (65) el coste unitario directo de un paciente con Hipertensión arterial *de novo* se estimó en 1.288,40 euros.

Los resultados se resumen en la Tabla 24.

Tabla 24: Resultados de costes pacientes con presencia de Hipertensión arterial *de novo*

Gen	*SNP*	D/R	Genotipo	Ausencia	Presencia de HTA	Costes
ABCB1	*rs1045642*	R	TC CC TT*	27 7 16	15 11 3	33.498,4 euros (los 26 pacientes) 3.865,20 euros (los 3 pacientes)
	rs1128503	R	CT CC TT*	29 9 12	20 8 1	36.075,2 euros (los 28 pacientes) 1.288,40 euros (1 paciente)

Por lo tanto, según lo resumido en la **Tabla 24**:

- En el caso de los pacientes con variante TT en el SNP rs1045642 del gen *ABCB1* del receptor, 3 de ellos desarrollaron HTA *de novo*, por lo que supuso un gasto de 3.865,20 euros. En cambio, 26 pacientes desarrollaron HTA *de novo* y tenían otra variante en el SNP rs1045642 del gen *ABCB1* del receptor, por lo que el gasto en estos pacientes se estimaría en 33.498,4 euros.
- En el caso de los pacientes con variante TT en el SNP rs1128503 del gen *ABCB1* del receptor, sólo un paciente desarrolló HTA *de novo*, por lo que supondría un gasto de 1.288,40 euros. En cambio, 28 pacientes desarrollaron HTA *de novo* y tenían otra variante en el SNP rs1128503 del gen *ABCB1* del receptor, por lo que el gasto en estos pacientes se estimaría en 36.075,2 euros.

Con esta información podríamos considerar que, si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados fueran una variante diferente a la TT en el SNP

rs1045642 del gen *ABCB1* del receptor o bien una variante diferente a la TT en el SNP rs1128503 del gen *ABCB1* del receptor, tendría más posibilidades de desarrollar una Hipertensión arterial *de novo* con los años y por tanto el coste sanitario de ese paciente sería elevado. Con este conocimiento, se podría desarrollar una estrategia clínica para hacer un seguimiento y control más frecuente al paciente y así detectar precozmente el desarrollo de la enfermedad, de esta manera se podría mejorar su control reduciendo el posible gasto sanitario. Además, el clínico podría plantear alguna intervención preventiva para evitar que aparezcan este evento o bien que el desarrollo sea más tardío.

Si analizamos el evento de **Nefrotoxicidad aguda** en los pacientes estudiados, se observó que solo la variante TT en el SNP *rs1045642* del gen *ABCB1* del donante presentó asociación con una disminución del riesgo de padecer nefrotoxicidad aguda. Y según la bibliografía consultada (64) el coste anual total medio por paciente, sólo coste directo hospitalario, serían de 16.417 euros. Los resultados se resumen en la **Tabla 25**.

Tabla 25: Resultados de costes pacientes con presencia de Nefrotoxicidad aguda

Gen	SNP	D/R	Genotipo	Ausencia	Presencia de Nefrotoxicidad aguda	Costes
ABCB1	*rs1045642*	D	CC TC TT*	11 27 13	10 17 1	443.259 euros (los 27 pacientes) 16.417 euros (por 1 paciente)

Por lo tanto, según lo resumido en la **Tabla 25**, en el caso de los pacientes con variante TT en el SNP rs1045642 del gen ABCB1 del Donante, sólo un paciente desarrolló Nefrotoxicidad aguda, por lo que supuso un gasto de 16.417 euros. En cambio, 27 pacientes desarrollaron Nefrotoxicidad aguda y tenían otra variante en el SNP rs1045642 del gen ABCB1 del donante, por lo que el gasto en estos pacientes se estimaría en 443.259 euros.

Con estos datos podríamos considerar que, si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados fueran una variante diferente a la variante TT en el SNP rs1045642 del gen ABCB1 del Donante, tendría más posibilidades de desarrollar una Nefrotoxicidad aguda con los años y por tanto el coste sanitario de ese paciente sería elevado. Con esta información, se podría desarrollar una estrategia clínica para hacer un seguimiento y

control al paciente para detectar precozmente el desarrollo de la enfermedad, y además el clínico podría plantear alguna intervención preventiva para evitar que aparezcan este evento adverso o bien que el desarrollo sea más tardío, de este modo se reduciría el posible gasto sanitario.

Finalmente, si analizamos el evento de aparición de **Tumores *de novo*** en los pacientes estudiados, en la muestra se observó que los pacientes que se asociaron con menor riesgo de padecer tumores *de novo* fueron aquellos con variante TT en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor (HR: 0,3).

Según la bibliografía consultada (63) el coste por paciente tratado (promedio coste unitario de los tratamientos radioterápicos más comunes + plus anestesia + consulta) se estimó en 2.151 euros/paciente.

Los resultados se resumen en la **Tabla 26**.

Tabla 26: Resultados de costes pacientes con presencia de Tumores *de novo*

Gen	SNP	D/R	Genotipo	Ausencia de tumor	Presencia de tumor de novo	Costes
UGT1A9	rs6714486	R	TA*	3	6	12.906 euros (costes por 6 pacientes)
			TT	48	22	47.322 euros (costes por 22 pacientes)

Por lo tanto, según lo resumido en la **Tabla 26,** en el caso de los pacientes con variante TA en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor, 6 pacientes desarrollaron Tumor *de novo*, por lo que supuso un gasto de 12.906 euros. En cambio, 22 pacientes desarrollaron Tumor *de novo* y tenían otra variante en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor, por lo que el gasto en estos pacientes se estimaría en 47.322 euros.

Al analizar la proporción de pacientes con las distintas variantes se observó que había 9 pacientes con la variante TA en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor y 6 de ellos (67%) desarrollan tumor. Por otro lado, había 70 pacientes con la variante TT en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor y 22 de ellos (31,4%) desarrollaron tumor.

Por lo tanto, aunque el coste total es mayor en la variante TT, la proporción de pacientes con la variante TA que desarrollan un tumor es mayor que en los pacientes con la variante TT en este

SNP, por lo que el riesgo de tumor y el coste potencial por paciente sería mayor si el receptor presenta el genotipo TA.

Según los resultados obtenidos podríamos considerar que, si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados mostraran que la variante TA está presente en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor, éste tendría más probabilidades de desarrollar una Tumor *de novo* con los años y, por tanto, el coste sanitario de ese paciente sería elevado. Con esta información, se podría desarrollar una estrategia clínica preventiva y hacer un seguimiento más frecuente al paciente para la detección precoz de posibles tumores, así con esta estrategia se podría reducir el posible gasto sanitario.

7. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

En este trabajo se han evaluado las posibles asociaciones entre variantes genéticas en un panel diseñado incluyendo los SNP con evidencia científica significativa de pacientes trasplantados de hígado estudiando su evolución clínica durante el seguimiento 12 años después de la intervención.
El panel incluyó 37 SNP de 14 genes: cinco transportadores (18 SNP), siete metabolizadores (14 SNP) y dos relacionados con vías de señalización (5 SNP).

A diferencia de otros estudios, el objetivo de este trabajo no fue determinar asociaciones directas entre un único fármaco y un SNP, sino analizar el papel de la variante farmacogenética en la evolución clínica de los pacientes, considerando que, además del tratamiento inmunosupresor, los pacientes son sometidos a otros medicamentos y factores ambientales.

En nuestra cohorte, encontramos que la tasa de **supervivencia** estaba asociada con las variantes del gen *MTHFR*, en concreto la variante CC en *MTHFR* rs1801131 del receptor y la variante TT en *MTHFR* rs1801133 del donante se relacionaron significativamente con una mayor mortalidad.

Se encontraron asociaciones entre la supervivencia y unas determinadas variantes del gen metabolizador *MTHFR* (metilenotetrahidrofolato reductasa), rs1801131 y rs1801133, demostraron asociación con una tasa de supervivencia significativamente más baja.
A pesar de que ambas variantes *MTHFR* rs1801131 y rs1801133 mostraron una asociación significativa con el exitus en conjunto, cuando se analizó por regresión logística multivariante con las otras variantes genéticas, rs1801133 no mostró una asociación significativa con la tasa de supervivencia por Kaplan-Meier, ya que esta prueba analiza el rol individual de una variante con la probabilidad en el tiempo de sufrir un evento clínico. De modo que, solo la variante CC en *MTHFR* rs1801131 del receptor demostró diferencias significativas en la tasa de supervivencia.

En relación con los resultados encontrados respecto al gen *MTHFR* y revisando la bibliografía, es conocido que *MTHFR* juega un papel clave en el metabolismo del folato y la síntesis de ADN, y participa en la farmacodinamia de varios fármacos.
La actividad de la enzima *MTHFR* debe determinar la magnitud del suministro de productos de folato y por tanto puede afectar a la síntesis de ADN. Esto se debe a que la a vía metabólica de un carbono participa principalmente en el suministro de los metabolitos necesarios para la síntesis de ADN (ciclo de folato), así como la metilación celular (ciclo de la cisteína) necesaria

para la regulación epigenética del ADN y las histonas, el metabolismo de la homocisteína y el catabolismo de la serina, que contribuyen a la re-metilación de la homocisteína a metionina.
Además, según publicaciones y evidencia científica, el aumento de la homocisteína en sangre asociado a la deficiencia funcional de *MTHFR* afecta las articulaciones y la capacidad cognitiva y aumenta el riesgo de infarto (66), accidente cerebrovascular, hipertensión, embolia y otros signos neurológicos.
Por otro lado, la actividad deficiente de *MTHFR* reduce la cantidad de precursores necesarios para la síntesis de ADN, ejerciendo un efecto sinérgico con el fármaco metotrexato en enfermedades reumáticas (67). Además, se ha asociado con una evolución desfavorable en pacientes con neuroblastoma (68).
Para mejorar este déficit, se ha sugerido que un suministro dietético de los precursores de estos ciclos podría ser beneficioso en pacientes con déficit de *MTHFR* (69,70), pero son necesarios más estudios para poder confirmar esta asociación.

Por lo tanto, sería interesante estudiar más en profundidad la asociación del gen *MTHFR*, en concreto la variante CC en *MTHFR* rs1801131 del receptor y la variante TT en *MTHFR* rs1801133 del donante, con una mayor mortalidad, teniendo en cuenta que se ha demostrado que *MTHFR* está relacionado con enfermedades cardiovasculares y reumáticas entre otras. Considerando, además, el tipo de pacientes que suelen ser trasplantados y sus co-morbilidades como Hipertensión arterial y *Diabetes mellitus*, que puede aumentar el riesgo de complicaciones graves y fallecimiento.

El riesgo de incidencia de **cáncer *de novo*** se asoció con una variante del gen metabolizador *UGT1A9*. Según los resultados obtenidos, la variante TA en *UGT1A9* rs6714486 del receptor se relacionó con una mayor probabilidad de aparición de tumor y obtuvo resultados estadísticamente significativos.

En nuestro estudio, la variante TT en *UGT1A9* se asoció con una menor incidencia (HR:0.13) de cáncer *de novo*. Cuando el tiempo de aparición de los tumores fue analizado individualmente por Kaplan-Meier para este SNP, también resultó significativo.
En este caso, la asociación de *UGT1A9* rs6714486 con menor incidencia de cáncer en nuestro estudio coincide con los datos de otros autores que correlacionaron esta variante con la farmacocinética, eficacia y reacciones adversas del tratamiento con micofenolato mofetilo en pacientes con trasplante renal (71).

Otros parámetros clínicos, a excepción de las infecciones, se asociaron principalmente con genes transportadores. Las asociaciones aparecieron en farmacogenes previamente asociados con medicamentos prescritos en el trasplante.

Las variantes de los genes *CYP3A4 y CYP3A5* (asociada por otros autores con tacrólimus) no demostraron una asociación estadísticamente significativa con los eventos clínicos estudiados en este trabajo. En cambio, en nuestros resultados, las variantes genéticas que afectan a los genes transportadores mostraron asociaciones estadísticamente significativas con los eventos clínicos estudiados.

En este sentido, las variantes en cuatro SNP diferentes del gen *ABCB1* se han asociado con *Diabetes mellitus*, hipertensión arterial y nefrotoxicidad aguda. Los mismos SNP observados en este estudio han sido asociados por otros autores (72, 73) con diferentes respuestas a una amplia gama de medicamentos, entre los que se encuentran la ciclosporina, tacrólimus, everólimus, glucocorticoides, sirólimus y muchos otros habituales que se incluyen dentro de los medicamentos utilizados en entornos de trasplante de órganos.

En el caso de la **Hipertensión arterial *de novo*¸** encontramos asociaciones de variantes en los genes *ABCB1 y ABCC2* del receptor con menor riesgo de padecer la enfermedad. En el gen *ABCB1*, la variante TT en *rs1045642* y en el *rs1128503* se asociaron significativamente con un menor riesgo de sufrir la enfermedad. En el caso del gen *ABCC2*, la variante GA en el SNP *rs2273697* mostró un OR de 0,942.

A modo de resumen, encontramos asociaciones significativas entre variantes presentes en el gen *ABCC2* (rs2273697 GA, rs717610 CT y rs3740066 TT) y eventos clínicos, pero protectores en este caso, como la reducción del riesgo de hipertensión y una incidencia significativamente menor de nefrotoxicidad crónica. Variantes en este gen ya ha sido relacionado por otros autores con problemas en el metabolismo y la farmacocinética de fármacos inmunosupresores como el ácido micofenólico y el tacrólimus (74, 75, 76).

Todos los SNPs del gen *ABC* descritos en el presente trabajo ya habían sido asociados con problemas de toxicidad y eficacia de tacrólimus en entornos de trasplante de órganos, excepto para el gen *ABCG2* y el rs717620 del gen *ABCC2*. Las variantes en los genes *ABCB1* y *ABCC2*, que codifican transportadores ubicados en el lado apical de las células renales tubulares, se han asociado con nefrotoxicidad causada por la acumulación intracelular de fármacos (77) debido al desequilibrio en el flujo de salida.

A pesar del bajo número de pacientes en nuestra cohorte, los datos reportados por otros autores y el presente trabajo arrojan luz sobre la importancia de la variabilidad genética en la superfamilia ABC genes.

En el caso de la ***Diabetes mellitus tipo II***, la importancia de los genes transportadores y sus variantes en el manejo de fármacos y la salud de los pacientes se pone de manifiesto en este trabajo, cómo algunas variantes genéticas presentes en la superfamilia del gen *SLCO* y su asociación con la incidencia de *Diabetes mellitus tipo II* (DM2).
En nuestra cohorte, la presencia de la variante CA en *SLCO1A2* rs11568563 se ha asociado significativamente con un menor riesgo de incidencia de DM2, y estos resultados refuerzan las observaciones que respaldan la idea de que las variantes genéticas de *SLCO1A2* podría estar involucradas en la patogenia del síndrome metabólico, caracterizado por una mayor incidencia de DM2 (78)

En el caso de la **Nefrotoxicidad**, en nuestra muestra se observó que los pacientes con la variante CT en *ABCC2 rs3740066* y los pacientes con la variante TC en *ABCC2 rs717620* en receptor presentaron un menor riesgo de padecer la enfermedad. En el caso de la nefrotoxicidad aguda, solo la variante TT en el SNP *rs1045642* del gen *ABCB1* del donante presentó asociación con una disminución del riesgo de padecer nefrotoxicidad aguda.

En cuanto a *CYP2B6*, se observó un mayor riesgo de **infección** en pacientes con la variante GA en el rs2279343 del gen metabolizador *CYP2B6*. Aunque la variante G en rs2279343 ha sido previamente correlacionado con los fármacos efavirenz (79), metadona, bupropión, nicotina y otros (80), no existe una asociación demostrada con los fármacos inmunosupresores. Sin embargo, algunas publicaciones relacionan variantes en este gen con la actividad del sistema inmunitario, aunque con poca evidencia en este momento (81).
Por lo que sería interesante realizar estudios con un mayor tamaño muestral con el fin de demostrar la evidencia o no de esta asociación.

Como parte final del trabajo se realizó un análisis económico desde el punto de vista del sistema sanitario con el objetivo de evaluar el interés de la realización de las pruebas genéticas previas al trasplante. Considerando que la correlación entre las pruebas genéticas con las ineficacias/complicaciones y sus gastos derivados, podría ser una información muy útil para los clínicos a la hora de predecir dichos acontecimientos, implementar medidas preventivas y tratar de manera adecuada al paciente.

Se realizó una búsqueda bibliográfica que sirviera de partida para el análisis económico preliminar que se planteó.

En el caso de los tumores *de novo* se basó en un informe de la Sociedad Española de Oncología Médica (63) en el que se realizaba una aproximación al cálculo del coste del abordaje del cáncer en España y algunas de sus conclusiones fueron que existía una falta de datos sobre los recursos hospitalarios para el abordaje del cáncer, que los estudios publicados hasta el momento eran muy heterogéneos, se basaban en extrapolar los datos, además no se englobaban todas las fases del abordaje del cáncer y estaban orientados a determinados tipos de cáncer. A pesar de su limitación las cifras que resultaron del estudio fueron muy interesantes, ya que pusieron de manifiesto el alto coste para el SNS de un enfermo de cáncer. Para este trabajo se utilizó la información obtenida del coste por paciente tratado (promedio coste unitario de los tratamientos radioterápicos más comunes+ plus anestesia + consulta).
Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se podría considerar que, si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados mostraran la presencia de la variante TA en el SNP rs6714486 del gen *UGT1A9* del Receptor, éste tendría más posibilidades de desarrollar una Tumos *de novo* con los años y, por tanto, el coste sanitario de ese paciente sería potencialmente más elevado. Con esta información, se podría desarrollar una estrategia clínica preventiva para hacer un seguimiento más frecuente al paciente, consiguiendo la detección precoz de posibles tumores, de esta manera se podría reducir el posible gasto sanitario.

En relación con la hipertensión arterial un artículo que estudiaba el coste de la hipertensión arterial en España fue tomado como referencia (65), algunas de las conclusiones de este artículo fueron que en promedio de un hipertenso costaría el doble que lo que costaría una persona normotensa, que para determinar los costes hay que tener en cuente los costes directos e indirectos, y que la falta de control de los pacientes supondría un incremento importante del coste unitario. Para este trabajo se utilizó la información obtenida de los costes directos de Atención primaria y medicación en un paciente con Hipertensión arterial *de novo.*
Analizando los datos obtenidos podríamos considerar que si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados fueran una variante diferente a la TT en el SNP rs1045642 del gen ABCB1 del receptor o bien una variante diferente a la TT en el SNP rs1128503 del gen ABCB1 del receptor, tendría más posibilidades de desarrollar una Hipertensión arterial de *novo* con los años y por tanto el coste sanitario de ese paciente sería elevado. Por lo tanto, se podría desarrollar una estrategia clínica para hacer un seguimiento

y control más frecuente al paciente y así detectar precozmente el desarrollo de la enfermedad, además de mejorar su control reduciendo así el posible gasto sanitario. Asimismo, el clínico podría plantear alguna intervención preventiva para evitar que aparezcan los efectos adversos o bien que el desarrollo sea más tardío.

Finalmente, para el estudio de las alteraciones renales y sus costes se usó como referencia una Tesis doctoral de la Universidad Autónoma de Barcelona y su artículo (64) donde se estudiaba la insuficiencia renal aguda relacionada con fármacos en pacientes hospitalizados, en este caso una de las conclusiones más relevantes fue que el coste de la estancia hospitalaria constituyó la mayor proporción del coste directo de la insuficiencia renal aguda durante la hospitalización. Para este trabajo se utilizó la información obtenida del coste total medio por paciente, sólo teniendo en cuenta el coste directo hospitalario.
Según los datos podríamos considerar que, si se realizan estudios farmacogenéticos a un paciente con trasplante hepático y los resultados fueran una variante diferente variante TT en el SNP rs1045642 del gen ABCB1 del Donante, tendría más posibilidades de desarrollar una Nefrotoxicidad aguda con los años y por tanto el coste sanitario de ese paciente sería elevado. Con esta información, se podría desarrollar una estrategia clínica preventiva haciendo seguimiento y control al paciente para detectar precozmente el desarrollo de la enfermedad, y además el clínico podría plantear alguna intervención preventiva para evitar que aparezcan este evento adverso o bien que el desarrollo sea más tardío, de este modo se reduciría el posible gasto sanitario.

En resumen, los resultados obtenidos en la aproximación del análisis económico realizado indicaron que la determinación de algunos genes específicos podría ser de utilidad para ahorrar costes en los pacientes trasplantados por la posible aparición de complicaciones.
En el caso de los pacientes con complicaciones como Hipertensión arterial, nefrotoxicidad aguda o tumores *de novo* supondrían un coste elevado para el Sistema Nacional de Salud que se podría reducir si se dispone de esta información.

Durante la elaboración del proyecto, en el año 2023, el SNS aprobó la inclusión de pruebas farmacogenéticas en la cartera común de prestación de servicios del SNS, si bien es cierto que las pruebas son para un número concreto de SNPs-fármacos, y solo para ciertas indicaciones, se sigue ampliando cada vez más, por lo que es una buena noticia para los pacientes. (82).
Además, la AEMPS (83) también ha puesto a disposición en su web información farmacogenética, que refleja lo que está incluido en la cartera. Y por su parte, la Sociedad

Española de Farmacogenética y Farmacogenómica (84) trabaja para dar soporte en la formación y el conocimiento necesario para que los médicos y otros profesionales sanitarios sepan cómo manejar esta herramienta que supone la farmacogenética, elaborando guías de implementación e impartiendo webinars formativos.

Por lo tanto, según la evolución de la Farmacogenética en los últimos años, se puede apreciar que las Autoridades Sanitarias son conscientes de la importancia de la Farmacogenética como ayuda en el manejo del paciente, aunque todavía queda mucho camino por recorrer se están realizando acciones para su implementación de manera gradual.

8. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

Como conclusión general de este trabajo podemos resumir que el análisis utilizando nuestro panel farmacogenético permite identificar una serie de variantes farmacogenéticas asociadas a la evolución clínica del paciente trasplantado durante un seguimiento de 12 años. La aproximación económica de estos resultados soporta el interés de un futuro estudio farmacoeconómico completo.

Entre las observaciones concretas, destaca que:

- Se observó asociación entre:
    - exitus y variantes genéticas en el gen MTHFR.
    - variantes del gen metabolizador UGT1A9 y una disminución del riesgo de cáncer *de novo.* Variantes genéticas en el gen CYP2B6 con mayor riesgo de infecciones. variantes en los genes transportadores SLCO1A2, ABCB1 ABCC2 con menor riesgo de *Diabetes mellitus* tipo 2, hipertensión arterial y nefrotoxicidad (aguda y crónica).
- Las complicaciones asociadas a estas variantes pueden tener un elevado coste para el SNS y la intervención terapéutica guiada farmacogenéticamente puede ofrecer ventajas en el sostenimiento económico del mismo.
- Por lo que la determinación previa de los genes asociados a estas complicaciones podría ayudar identificar los pacientes de mayor riesgo proporcionando al clínico el soporte necesario a una toma de decisiones más personalizada que permita mejorar la calidad de vida del paciente y optimizar los recursos del SNS.
- Se requerirán más estudios para confirmar las hipótesis y resultados expuestos para lograr evidencia más robusta.

BIBLIOGRAFÍA

(1) Starzl, T. E., Marchioro, T. L., Porter, K. A., & Brettschneider, L. (1967). Homotransplantation of the liver. Transplantation, 5(4), 790–803. https://doi.org/10.1097/00007890-196707001-00003

(2) Orozco-Zepeda H. (2005). Un poco de historia sobre el trasplante hepático [A little history about liver transplantation]. Revista de investigacion clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion, 57(2), 124–128.

(3) Calne, R. Y., Williams, R., Dawson, J. L., Ansell, I. D., Evans, D. B., Flute, P. T., Herbertson, P. M., Joysey, V., Keates, G. H., Knill-Jones, R. P., Mason, S. A., Millard, P. R., Pena, J. R., Pentlow, B. D., Salaman, J. R., Sells, R. A., & Cullum, P. A. (1968). Liver transplantation in man. II. A report of two orthotopic liver transplants in adult recipients. British medical journal, 4(5630), 541–546.

(4) National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: liver transplantation--June 20-23, 1983. (1984). Hepatology (Baltimore, Md.), 4(1 Suppl), 107S–110S.

(5) www.mscbs.es. Nota de prensa de 11 de septiembre de 2022

(6) www.ont.es. ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE HEPÁTICO ESPAÑA 2021. https://www.ont.es/wp-content/uploads/2023/06/Actividad-de-Donacion-y-Trasplante-Hepatico-en-Espana-2021.pdf

(7) www.mscbs.es. Nota de prensa de 17 de enero de 2024.

(8). www.ont.es. ACTIVIDAD DE DONACIÓN Y TRASPLANTE HEPÁTICO ESPAÑA 2023. https://www.ont.es/wp-content/uploads/2024/03/DONACION-Y-TRASPLANTE-HEPATICO-2023.pdf

(9) European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu (2016). EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. Journal of hepatology, 64(2), 433–485. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.10.006

(10) CGCOF y SEFH. Guía farmacoterapéutica y de actuación farmacéutica en Trasplante de órgano sólido, 2023. ISBN: 978-84-87089-8. Disponible en: https://www.sefh.es/infografias_detalle.php?idinfografia=144

(11) Valdivieso López A, Sección de Trasplante de Órganos. Guía de Trasplante de Órganos Abdominales. Guías Clínicas de la Asociación Española de Cirujanos. Arán Ediciones, 2016. ISBN:

978-84-16585-24-3. Disponible en: https://www.aecirujanos.es/files/documentacion/documentos/guia-trasplante-de-organos-abdominales.pdf

(12) Holt C. D. (2017). Overview of Immunosuppressive Therapy in Solid Organ Transplantation. Anesthesiology clinics, 35(3), 365–380. https://doi.org/10.1016/j.anclin.2017.04.001

(13) Charlton M. (2013). Evolving aspects of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis. Current opinion in organ transplantation, 18(3), 251–258. https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e3283615d30

(14) Dare, A. J., Plank, L. D., Phillips, A. R., Gane, E. J., Harrison, B., Orr, D., Jiang, Y., & Bartlett, A. S. (2014). Additive effect of pretransplant obesity, diabetes, and cardiovascular risk factors on outcomes after liver transplantation. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 20(3), 281–290. https://doi.org/10.1002/lt.23818

(15) Hakeem, A. R., Cockbain, A. J., Raza, S. S., Pollard, S. G., Toogood, G. J., Attia, M. A., Ahmad, N., Hidalgo, E. L., Prasad, K. R., & Menon, K. V. (2013). Increased morbidity in overweight and obese liver transplant recipients: a single-center experience of 1325 patients from the United Kingdom. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 19(5), 551–562. https://doi.org/10.1002/lt.23618.

(16) Canzanello, V. J., Textor, S. C., Taler, S. J., Schwartz, L. L., Porayko, M. K., Wiesner, R. H., & Krom, R. A. (1998). Late hypertension after liver transplantation: a comparison of cyclosporine and tacrolimus (FK 506). Liver transplantation and surgery : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 4(4), 328–334. https://doi.org/10.1002/lt.500040404

(17) Midtvedt, K., Hartmann, A., Foss, A., Fauchald, P., Nordal, K. P., Rootwelt, K., & Holdaas, H. (2001). Sustained improvement of renal graft function for two years in hypertensive renal transplant recipients treated with nifedipine as compared to lisinopril. Transplantation, 72(11), 1787–1792. https://doi.org/10.1097/00007890-200112150-00013

(18). Navasa, M., Bustamante, J., Marroni, C., González, E., Andreu, H., Esmatjes, E., García-Valdecasas, J. C., Grande, L., Cirera, I., Rimola, A., & Rodés, J. (1996). Diabetes mellitus after liver

transplantation: prevalence and predictive factors. Journal of hepatology, 25(1), 64–71. https://doi.org/10.1016/s0168-8278(96)80329-1

(19) Marchetti P. (2005). New-onset diabetes after liver transplantation: from pathogenesis to management. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 11(6), 612–620. https://doi.org/10.1002/lt.20439

(20) Saliba, F., Lakehal, M., Pageaux, G. P., Roche, B., Vanlemmens, C., Duvoux, C., Dumortier, J., Salamé, E., Calmus, Y., Maugendre, D., & Diapason Study Group (2007). Risk factors for new-onset diabetes mellitus following liver transplantation and impact of hepatitis C infection : an observational multicenter study. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 13(1), 136–144. https://doi.org/10.1002/lt.21010

(21) Félix Alegre Garrido y J. Ignacio Herrero Santos (septiembre-octubre2009*). Diabetes mellitus de novo* tras el trasplante hepático. GH CONTINUADA.. Vol. 8 N.º 5

(22) Davidson, J., Wilkinson, A., Dantal, J., Dotta, F., Haller, H., Hernández, D., Kasiske, B. L., Kiberd, B., Krentz, A., Legendre, C., Marchetti, P., Markell, M., van der Woude, F. J., Wheeler, D. C., & International Expert Panel (2003). New-onset diabetes after transplantation: 2003 International consensus guidelines. Proceedings of an international expert panel meeting. Barcelona, Spain, 19 February 2003. Transplantation, 75(10 Suppl), SS3–SS24. https://doi.org/10.1097/01.TP.0000069952.49242.3E

(23) Castells, L., Baliellas, C., Bilbao, I., Cantarell, C., Cruzado, J. M., Esforzado, N., García-Valdecasas, J. C., Lladó, L., Rimola, A., Serón, D., & Oppenheimer, F. (2014). Detección precoz, prevención y manejo de la insuficiencia renal en el trasplante hepático [Early detection, prevention and management of renal failure in liver transplantation]. Gastroenterologia y hepatologia, 37(8), 480–491. https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2013.11.006

(24) Jing, L., Chen, W., Guo, L., Zhao, L., Liang, C., Chen, J., & Wang, C. (2021). Acute kidney injury after lung transplantation: a narrative review. Annals of translational medicine, 9(8), 717. https://doi.org/10.21037/atm-20-7644

(25) Monsour, H. P., Jr, Wood, R. P., Dyer, C. H., Galati, J. S., Ozaki, C. F., & Clark, J. H. (1995). Renal insufficiency and hypertension as long-term complications in liver

transplantation. Seminars in liver disease, 15(2), 123–132. https://doi.org/10.1055/s-2007-1007269

(26) Mejia, C., & Yadav, A. (2021). Kidney Disease After Nonkidney Solid Organ Transplant. Advances in chronic kidney disease, 28(6), 577–586. https://doi.org/10.1053/j.ackd.2021.10.010

(27) Fisher, R. A., Ham, J. M., Marcos, A., Shiffman, M. L., Luketic, V. A., Kimball, P. M., Sanyal, A. J., Wolfe, L., Chodorov, A., & Posner, M. P. (1998). A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil with neoral or tacrolimus after orthotopic liver transplantation. Transplantation, 66(12), 1616–1621. https://doi.org/10.1097/00007890-199812270-00008.

(28) Jain, A., Reyes, J., Kashyap, R., Rohal, S., Abu-Elmagd, K., Starzl, T., & Fung, J. (1999). What have we learned about primary liver transplantation under tacrolimus immunosuppression? Long-term follow-up of the first 1000 patients. Annals of surgery, 230(3), 441–449. https://doi.org/10.1097/00000658-199909000-00016

(29) Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 Multicentre Liver Study Group. (1994). Lancet (London, England), 344(8920), 423–428.

(30) U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group (1994). A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. The New England journal of medicine, 331(17), 1110–1115. https://doi.org/10.1056/NEJM199410273311702

(31) McDiarmid, S. V., Colonna, J. O., 2nd, Shaked, A., Ament, M. E., & Busuttil, R. W. (1993). A comparison of renal function in cyclosporine- and FK-506-treated patients after primary orthotopic liver transplantation. Transplantation, 56(4), 847–853. https://doi.org/10.1097/00007890-199310000-00014

(32) Beckebaum, S., Cicinnati, V. R., Radtke, A., & Kabar, I. (2013). Calcineurin inhibitors in liver transplantation - still champions or threatened by serious competitors?. Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver, 33(5), 656–665. https://doi.org/10.1111/liv.12133

(33) De Simone, P., Carrai, P., Coletti, L., Ghinolfi, D., Petruccelli, S., & Filipponi, F. (2017). Modification of immunosuppressive therapy as risk factor for complications after liver

transplantation. Best practice & research. Clinical gastroenterology, 31(2), 199–209. https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.03.001

(34) Goralczyk, A. D., Bari, N., Abu-Ajaj, W., Lorf, T., Ramadori, G., Friede, T., & Obed, A. (2012). Calcineurin inhibitor sparing with mycophenolate mofetil in liver transplantion: a systematic review of randomized controlled trials. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons, 12(10), 2601–2607. https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04157.x

(35) Lin, M., Mittal, S., Sahebjam, F., Rana, A., & Sood, G. K. (2017). Everolimus with early withdrawal or reduced-dose calcineurin inhibitors improves renal function in liver transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. Clinical transplantation, 31(2), 10.1111/ctr.12872. https://doi.org/10.1111/ctr.12872

(36) Rodríguez-Perálvarez, M., Germani, G., Darius, T., Lerut, J., Tsochatzis, E., & Burroughs, A. K. (2012). Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons, 12(10), 2797–2814. https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04140.x

(37) Winston, D. J., Emmanouilides, C., & Busuttil, R. W. (1995). Infections in liver transplant recipients. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 21(5), 1077–1091. https://doi.org/10.1093/clinids/21.5.1077

(38) Aguado, J. M., García-Reyne, A., & Lumbreras, C. (2007). Infecciones en los pacientes trasplantados de hígado [Infections in liver transplant recipients]. Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica, 25(6), 401–410. https://doi.org/10.1016/s0213-005x(07)74314-8

(39) Losada, I., Cuervas-Mons, V., Millán, I., & Dámaso, D. (2002). Infección precoz en el paciente con trasplante hepático: incidencia, gravedad, factores de riesgo y sensibilidad antibiótica de los aislados bacterianos [Early infection in liver transplant recipients: incidence, severity, risk factors and antibiotic sensitivity of bacterial isolates]. Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica, 20(9), 422–430. https://doi.org/10.1016/s0213-005x(02)72837-1

(40) Rodríguez-Ariza, A., Monrobel, A., Martínez-Galisteo, E., Alicia Padilla, C., Bárcena, J. A., Fraga, E., Costán, G., Barrera, P., Poyato, A., Montero, J. L., López-Cillero, P., Muntané, J., & de la Mata, M. (2008). Factores pronósticos de complicaciones postoperatorias en el transplante hepático [Prognostic factors associated with postoperative complications in liver

transplant]. Revista espanola de enfermedades digestivas, 100(3), 129–138. https://doi.org/10.4321/s1130-01082008000300002

(41) Yuste, J. R., del Pozo, J. L., Quetglás, E. G., & Azanza, J. R. (2006). Infecciones más comunes en el paciente trasplantado [The most common infections in the transplanted patient]. Anales del sistema sanitario de Navarra, 29 Suppl 2, 175–205.

(42) Aguado, J. M., García-Reyne, A., & Lumbreras, C. (2007). Infecciones en los pacientes trasplantados de hígado [Infections in liver transplant recipients]. Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica, 25(6), 401–410. https://doi.org/10.1016/s0213-005x(07)74314-8

(43) Fernández Carrillo, C., Lens, S., Llop, E., Pascasio, J. M., Crespo, J., Arenas, J., Fernández, I., Baliellas, C., Carrión, J. A., de la Mata, M., Buti, M., Castells, L., Albillos, A., Romero, M., Turnes, J., Pons, C., Moreno-Planas, J. M., Moreno-Palomares, J. J., Fernández-Rodriguez, C., García-Samaniego, J., … Calleja, J. L. (2017). Treatment of hepatitis C virus infection in patients with cirrhosis and predictive value of model for end-stage liver disease: Analysis of data from the Hepa-C registry. Hepatology (Baltimore, Md.), 65(6), 1810–1822. https://doi.org/10.1002/hep.29097

(44) Fernández Carrillo, C., Crespo, G., de la Revilla, J., Castells, L., Buti, M., Montero, J. L., Fábrega, E., Fernández, I., Serrano-Millán, C., Hernández, V., Calleja, J. L., & Londoño, M. C. (2017). Successful Continuation of HCV Treatment After Liver Transplantation. Transplantation, 101(5), 1009–1012. https://doi.org/10.1097/TP.0000000000001596

(45) Antinucci, F., Anders, M., Orozco, F., Mella, J., Cobos, M., McCormack, L., & Mastai, R. (2015). Tumores malignos *de novo* en el trasplante hepático. Experiencia de un centro en la Argentina [*De novo* malignant tumors following liver transplantation. A single-center experience in Argentina]. Medicina, 75(1), 18–22.

(46) Levy, M., Backman, L., Husberg, B., Goldstein, R., McMillan, R., Gibbs, J., Gonwa, T. A., Holman, M., & Klintmalm, G. (1993). *De novo* malignancy following liver transplantation: a single-center study. Transplantation proceedings, 25(1 Pt 2), 1397–1399.

(47) Frezza, E. E., Fung, J. J., & van Thiel, D. H. (1997). Non-lymphoid cancer after liver transplantation. Hepato-gastroenterology, 44(16), 1172–1181.

(48) Jiang, Y., Villeneuve, P. J., Fenton, S. S., Schaubel, D. E., Lilly, L., & Mao, Y. (2008). Liver transplantation and subsequent risk of cancer: findings from a Canadian cohort study. Liver

transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 14(11), 1588–1597. https://doi.org/10.1002/lt.21554

(49) Hiesse, C., Rieu, P., Kriaa, F., Larue, J. R., Goupy, C., Neyrat, N., & Charpentier, B. (1997). Malignancy after renal transplantation: analysis of incidence and risk factors in 1700 patients followed during a 25-year period. Transplantation proceedings, 29(1-2), 831–833. https://doi.org/10.1016/s0041-1345(96)00153-4

(50) Herrero, J. I., Lorenzo, M., Quiroga, J., Sangro, B., Pardo, F., Rotellar, F., Alvarez-Cienfuegos, J., & Prieto, J. (2005). *De Novo* neoplasia after liver transplantation: an analysis of risk factors and influence on survival. Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society, 11(1), 89–97. https://doi.org/10.1002/lt.20319

(51) Yao, F. Y., Gautam, M., Palese, C., Rebres, R., Terrault, N., Roberts, J. P., & Peters, M. G. (2006). *De novo* malignancies following liver transplantation: a case-control study with long-term follow-up. Clinical transplantation, 20(5), 617–623. https://doi.org/10.1111/j.1399-0012.2006.00527.x

(52) Chapman, J. R., Webster, A. C., & Wong, G. (2013). Cancer in the transplant recipient. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 3(7), a015677. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015677

(53) Gogna S, John S. Cancer, Posttransplantation. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2018. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537256/.

(54) Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., Smith, H. O., Yandell, M., Evans, C. A., Holt, R. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P., Ballew, R. M., Huson, D. H., Wortman, J. R., Zhang, Q., Kodira, C. D., Zheng, X. H., Chen, L., Skupski, M., … Zhu, X. (2001). The sequence of the human genome. Science (New York, N.Y.), 291(5507), 1304–1351. https://doi.org/10.1126/science.1058040

(55) Consejo General de Colegios Farmacéuticos y Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. 2023-Guia-farmacoterapeutica-actuacion-farmaceutica-TOS.pdf. ISBN 978-84-87089-39-8

(56) https://www.pharmgkb.org

(57) Liang, Y., Han, W., Yan, H., & Mao, Q. (2018). Association of CYP3A5*3 polymorphisms and prostate cancer risk: A meta-analysis. Journal of cancer research and therapeutics, 14(Supplement), S463–S467. https://doi.org/10.4103/0976-7800.179173

(58) Badía X, Rovira J. Introducción a la evaluación económica de medicamentos y otras tecnologías sanitarias. Ed. Luzán, S.A. Madrid 1995. ISBN 10: 8479890444 / ISBN 13: 9788479890445

(59) Iñesta García A. Sobre medicamentos y Farmacoeconomía. Madrid: Escuela Nacional de Sanidad-Instituto de Salud Carlos III, Octubre 2011. DOI: 10.4321/repisalud.5382. URI: http://hdl.handle.net/20.500.12105/5382

(60) Ortega A. Farmacoeconomía. Revista de Farmacia Hospitalaria. Cap211.

(61) Mosquera Reboredo, J. M., & Vázquez Martul, E. (2011). Diagnostic criteria of antibody-mediated rejection in kidney transplants. Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia, 31(4), 382–391. https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2011.Apr.10740

(62) https://www.senefro.org/modules.php?name=calcfg

(63). Sociedad Española de Oncología médica (SEOM). Aproximación al cálculo del coste del abordaje del cáncer en España. Octubre 2013. https://seom.org/otros-servicios/noticias/104471-aproximacion-al-calculo-del-coste-del-abordaje-del-cancer-en-espana

(64). Iavecchia, L., Cereza García, G., Sabaté Gallego, M., Vidal Guitart, X., Ramos Terrades, N., de la Torre, J., Segarra Medrano, A., & Agustí Escasany, A. (2015). Drug-related acute renal failure in hospitalised patients. Nefrologia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia, 35(6), 523–532. https://doi.org/10.1016/j.nefro.2015.09.007

(65). Saez. M, Barceló M.A (2012). Coste de la hipertensión arterial en España, Hipertensión y Riesgo Vascular, Volume 29, Issue 4, Pages 145-151, ISSN 1889-1837, https://doi.org/10.1016/j.hipert.2012.07.003.

(66). Kang, S. S., Wong, P. W., Susmano, A., Sora, J., Norusis, M., & Ruggie, N. (1991). Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. American journal of human genetics, 48(3), 536–545.

(67). Ghodke-Puranik, Y., Puranik, A. S., Shintre, P., Joshi, K., Patwardhan, B., Lamba, J., Niewold, T. B., & Chopra, A. (2015). Folate metabolic pathway single nucleotide polymorphisms: a predictive pharmacogenetic marker of methotrexate response in Indian (Asian) patients with

rheumatoid arthritis. Pharmacogenomics, 16(18), 2019–2034. https://doi.org/10.2217/pgs.15.145

(68). Olivera, G. G., Yáñez, Y., Gargallo, P., Sendra, L., Aliño, S. F., Segura, V., Sanz, M. Á., Cañete, A., Castel, V., Font De Mora, J., Hervás, D., Berlanga, P., & Herrero, M. J. (2020). MTHFR and VDR Polymorphisms Improve the Prognostic Value of MYCN Status on Overall Survival in Neuroblastoma Patients. International journal of molecular sciences, 21(8), 2714. https://doi.org/10.3390/ijms21082714

(69). Liew, S. C., & Gupta, E. D. (2015). Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. European journal of medical genetics, 58(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.10.004

(70). Gao, X., Sanderson, S. M., Dai, Z., Reid, M. A., Cooper, D. E., Lu, M., Richie, J. P., Jr, Ciccarella, A., Calcagnotto, A., Mikhael, P. G., Mentch, S. J., Liu, J., Ables, G., Kirsch, D. G., Hsu, D. S., Nichenametla, S. N., & Locasale, J. W. (2019). Dietary methionine influences therapy in mouse cancer models and alters human metabolism. Nature, 572(7769), 397–401. https://doi.org/10.1038/s41586-019-1437-3

(71). Jiang, Z., & Hu, N. (2021). Effect of UGT polymorphisms on pharmacokinetics and adverse reactions of mycophenolic acid in kidney transplant patients. Pharmacogenomics, 22(15), 1019–1040. https://doi.org/10.2217/pgs-2021-0087

(72). Vanhove, T., Annaert, P., Lambrechts, D., & Kuypers, D. R. J. (2017). Effect of ABCB1 diplotype on tacrolimus disposition in renal recipients depends on CYP3A5 and CYP3A4 genotype. The pharmacogenomics journal, 17(6), 556–562. https://doi.org/10.1038/tpj.2016.49

(73). Tron, C., Lemaitre, F., Verstuyft, C., Petitcollin, A., Verdier, M. C., & Bellissant, E. (2019). Pharmacogenetics of Membrane Transporters of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation. Clinical pharmacokinetics, 58(5), 593–613. https://doi.org/10.1007/s40262-018-0717-7

(74). Genvigir, F. D. V., Nishikawa, A. M., Felipe, C. R., Tedesco-Silva, H., Jr, Oliveira, N., Salazar, A. B. C., Medina-Pestana, J. O., Doi, S. Q., Hirata, M. H., & Hirata, R. D. C. (2017). Influence of ABCC2, CYP2C8, and CYP2J2 Polymorphisms on Tacrolimus and Mycophenolate Sodium-Based Treatment in Brazilian Kidney Transplant Recipients. Pharmacotherapy, 37(5), 535–545. https://doi.org/10.1002/phar.1928

(75). Božina, N., Lalić, Z., Nađ-Škegro, S., Borić-Bilušić, A., Božina, T., Kaštelan, Ž., & Trkulja, V. (2017). Steady-state pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant patients: exploratory analysis of the effects of cyclosporine, recipients' and donors' ABCC2 gene variants, and their interactions. European journal of clinical pharmacology, 73(9), 1129–1140. https://doi.org/10.1007/s00228-017-2285-4

(76). Thishya, K., Sreenu, B., Raju, S. B., & Kutala, V. K. (2021). Impact of Pharmacogenetic Determinants of Tacrolimus and Mycophenolate on Adverse Events in Renal Transplant Patients. Current drug metabolism, 22(5), 342–352. https://doi.org/10.2174/1389200222666210114123349

(77). Ivanyuk, A., Livio, F., Biollaz, J., & Buclin, T. (2017). Renal Drug Transporters and Drug Interactions. Clinical pharmacokinetics, 56(8), 825–892. https://doi.org/10.1007/s40262-017-0506-8

(78). Lu, X., Chan, T., Cheng, Z., Shams, T., Zhu, L., Murray, M., & Zhou, F. (2018). The 5'-AMP-Activated Protein Kinase Regulates the Function and Expression of Human Organic Anion Transporting Polypeptide 1A2. Molecular pharmacology, 94(6), 1412–1420. https://doi.org/10.1124/mol.118.113423

(79). Nwogu, J. N., Gandhi, M., Owen, A., Khoo, S. H., Taiwo, B., Olagunju, A., Berzins, B., Okochi, H., Tallerico, R., Robertson, K., & Babalola, C. P. (2021). Associations between efavirenz concentrations, pharmacogenetics and neurocognitive performance in people living with HIV in Nigeria. AIDS (London, England), 35(12), 1919–1927. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000002984

(80). Langmia, I. M., Just, K. S., Yamoune, S., Brockmöller, J., Masimirembwa, C., & Stingl, J. C. (2021). CYP2B6 Functional Variability in Drug Metabolism and Exposure Across Populations-Implication for Drug Safety, Dosing, and Individualized Therapy. Frontiers in genetics, 12, 692234. https://doi.org/10.3389/fgene.2021.692234

(81). Lv, C., & Huang, L. (2020). Xenobiotic receptors in mediating the effect of sepsis on drug metabolism. Acta pharmaceutica Sinica. B, 10(1), 33–41. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.12.003

(82). https://cgen.sanidad.gob.es/#/

(83). www.aemps.gob.es

(84). www.seff.es

ANEXOS

- **Dictamen favorable CEIm**
- **Autorización de la realización del proyecto en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia y el Instituto de investigación sanitaria La Fe.**
- **Publicación relacionada con la tesis presentada.**

La Fe
Departament de Salut

FPNT-CEIB-07 (A)

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Don Serafín Rodríguez Capellán, Secretario del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

C E R T I F I C A

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **4 de julio de 2017**, el Proyecto de Tesis:

Título: **"ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO SOBRE LA UTILIDAD DE LA FARMACOGENÉTICA COMO FACTOR PREDICTIVO EN LA EVOLUCIÓN DEL TRASPLANTE Y SU IMPLEMENTACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA."**
Nº de registro: **2017/0274**

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia, este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Tesis que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe, siendo los Directores de la Tesis el **Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER** y la **Dra. Mª JOSÉ HERRERO CERVERA** del servicio/unidad/grupo de investigación de **FARMACIA,** y el DOCTORANDO **D./ Dña. CRISTINA SERRANO MILLAN.**

Que el CEIm del Hospital Universitario y Politécnico La Fe, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm del Hospital Universitario y Politécnico La Fe es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que, en el caso de que algún miembro participe en el estudio o declare algún conflicto de interés, no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del estudio clínico.

Lo que firmo en Valencia, a 4 de julio de 2017

Fdo.: Don Serafín Rodríguez Capellán
Secretario del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos

La Fe
Departament de Salut

FPNT-CEIB-07 (A)

ANEXO I
COMPOSICIÓN CEIm

Presidente:
Dra. ADELA CAÑETE NIETO (Oncología Pediátrica)

Vicepresidente:
Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER (Catedrático Farmacólogo Clínico)

Secretario:
D. SERAFIN RODRIGUEZ CAPELLAN (Licenciado en derecho-Ajeno profesión sanitaria)

Miembros:
Dr. LUIS ALMENAR BONET (Cardiología)
Dra. ESTHER ZORIO GRIMA (Cardiología)
Dr. MARINO BLANES JULIA (Unidad de Enfermedades Infecciosas)
Dra. INMACULADA CALVO PENADES (Reumatología Pediátrica)
Dr. BONAVENTURA CASANOVA ESTRUCH (Neurología)
Dr. JOSE VICENTE CASTELL RIPOLL (Hepatología Experimental)
Dr. JOSE VICENTE CERVERA ZAMORA (Hematología)
Dra. MARIA JOSE GOMEZ-LECHON MOLINER (Investigadora del Grupo Acreditado en Hepatología Experimental)
Dra. MARIA ISABEL IZQUIERDO MACIAN (Neonatología)
Dr. JOSE LOPEZ ALDEGUER (Enfermedades Infecciosas)
Dr. LUIS MARTINEZ DOLZ (Cardiología)
Dr. JAVIER PEMAN GARCIA (Investigador del Grupo Acreditado multidisciplinar para el estudio de la Infección Grave)
Dr. ALFREDO PERALES MARIN (Ginecología y Obstetricia)
Dra. PAULA RAMIREZ GALLEYMORE (UCI)
Dra. PILAR SAENZ GONZALEZ (Neonatología)
Dr. MAXIMO VENTO TORRES (Neonatología)
Dra. BEGOÑA POLO MIQUEL (Gastroenterología y Nutrición Pediátrica)
Dra. IRATXE ZARRAGOIKOETXEA JAUREGUI (Anestesia y Reanimación)
Dra. SARA BRUGGER FRIGOLS (Radiodiagnóstico)
Dra. EUGENIA PAREJA IBARS (Cirugía General y Aparato Digestivo)
Dr. JAIME SANZ CABALLER (Investigador del Grupo Acreditado en Hematología y Hemoterapia)
Dra. PILAR SEPULVEDA SANCHIS (Cardiocirculatorio)
Dr. FELIPE QUEROL FUENTES (Hemostasia y Trombosis)
Dra. ESPERANZA FERRER FERRANDIZ (Directora Escuela de Enfermería)
Dra. MARIA LUISA MARTINEZ TRIGUERO (Análisis Clínicos)
Dra. MARIA TORDERA BAVIERA (Farmacéutica del Hospital)
Dr. CESAR DIAZ GARCIA (Reproducción - Miembro de la Comisión de Investigación)
Dr. SANTIAGO DOMINGO DEL POZO (Oncología Ginecológica)
Dr. ENRIQUE VIOSCA HERRERO (Medicina Física y Rehabilitación)
Dr. JOAQUIN ERNESTO HINOJOSA DE VAL (Medicina Digestiva - Hospital de Manises)
Dr. RAFAEL BOTELLA ESTRADA (Dermatología)
Dra. Mª ANGELES CANOS VERDECHO (Unidad del Dolor)
Dña. ANA MARIA VIVAS BROSETA (Directora de Enfermería)
Dña. MARIA VICTORIA PARICIO GOMEZ (Enfermería)
Dr. OSCAR JOSÉ JUAN VIDAL (Oncología Médica)
Dr. JOSÉ MARÍA CANELLES GAMIR (Farmacéutico de Atención Primaria)
Dr. JOSE IVORRA CORTES (Reumatología)
Dr. MATTEO FRASSON (Cirugía General y Aparato Digestivo)

La Fe
Departament de Salut

FPNT-CEIB-07 (A)

Dr. JOSÉ VICENTE SOLANAS PRATS (Atención Primaria)
Dr. OSCAR DIAZ CAMBRONERO (Anestesia y Reanimación)
Dña. PILAR ROBLES VILLALBA (Vicepresidenta de la asociación de Miastenia - Miembro ajeno a la profesión sanitaria)
Dr. JAVIER LLUNA GONZÁLEZ (Cirugía Pediátrica - Miembro del Comité de Ética Asistencial)
Dra. MONICA ALMIÑANA RIQUE (Gerente del Dpto. de Salud Valencia La Fe)
D. MIGUEL ÁNGEL CANO TORRES (Secretario de ASLEUVAL - Representante de los pacientes)

GENERALITAT VALENCIANA

Instituto de Investigación Sanitaria La Fe

FPNT-07-50-EO (B)

Dña. Monica Almiñana I Riqué, Gerente del Departamento de Salud Valencia-La Fe, y vista la autorización del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia en su sesión de fecha 04 de julio de 2017:

CERTIFICA:

Que conoce la propuesta para que se realice el Proyecto de Tesis con código de proyecto: **2017/0274**, titulado: "*ESTUDIO OBSERVACIONAL RETROSPECTIVO SOBRE LA UTILIDAD DE LA FARMACOGENÉTICA COMO FACTOR PREDICTIVO EN LA EVOLUCIÓN DEL TRASPLANTE Y SU IMPLEMENTACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA.*", y que será llevado a cabo por el/la **Dr./Dra. Salvador Aliño Pellicer** y por el/la **Dr./Dra. Maria José Herrero Cervera** del servicio/Unidad/Grupo de Investigación de **Farmacia** como Directores de la Tesis y el Doctorando **D./Dña. Cristina Serrano Millán.**

Que esta de acuerdo con el contrato firmado entre el Centro y el promotor en el que se especifican todos los aspectos de este proyecto.

Que acepta la realización de dicho proyecto en este Centro.

Lo que firma en Valencia a, 01 de marzo de 2018

Fdo. Dra. Monica Almiñana I Riqué

pharmaceutics

MDPI

Article

Pharmacogene Variants Associated with Liver Transplant in a Twelve-Year Clinical Follow-Up

Luis Sendra [1,2], Gladys G. Olivera [1,2], Rafael López-Andújar [3], Cristina Serrano [4], Luis E. Rojas [5,6], Eva María Montalvá [3], María José Herrero [1,2,*] and Salvador F. Aliño [1,2,7]

1 Pharmacogenetics and Gene Therapy Unit, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, 46026 Valencia, Spain; luis.sendra@uv.es (L.S.); gladyso@alumni.uv.es (G.G.O.); alino@uv.es (S.F.A.)
2 Gene Therapy and Pharmacogenomics Group, Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Universitat de València, Av. Blasco Ibáñez 15, Lab. 03, 46010 Valencia, Spain
3 Unit of Hepatobiliopancreatic Surgery and Transplant, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, 46026 Valencia, Spain; rafaellopezandujar@gmail.com (R.L.-A.); montalva.oron@gmail.com (E.M.M.)
4 Spanish Clinical Research Network, SCReN, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, 46026 Valencia, Spain; crisserrano.hrc@gmail.com
5 Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago 3542000, Chile; lsroja@gmail.com
6 Program of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago 3543151, Chile
7 Unit of Clinical Pharmacology, Drugs Area, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, 46026 Valencia, Spain
* Correspondence: maria.jose.herrero@uv.es; Tel.: +34-963-864-261

Abstract: Some gene polymorphisms have been previously associated individually with tacrolimus efficacy and toxicity, but no long-term study to determine the role of pharmacogene variants in the clinical evolution of liver-transplanted patients has been addressed so far. In the present work, we analyzed the relation between highly-evidenced genetic polymorphisms located in relevant pharmacogenes and the risk of suffering premature death and other comorbidities such as cancer, diabetes mellitus, arterial hypertension, graft rejection, infections and nephrotoxicities in a cohort of 87 patients (8 were excluded due to early loss of follow-up) transplanted at Hospital La Fe in Valencia (Spain) during a 12-year follow-up. Employing a logistic regression model with false discovery rate penalization and Kaplan–Meier analyses, we observed significant association between survival rates and metabolizer genes. In this sense, our results show an association between MTHFR gene variants in donor rs1801133 (HR: 7.90; *p*-value: 0.032) and recipient rs1801131 (HR: 7.34; *p*-value: 0.036) and the group of patients who died during the follow-up period, supporting the interest of confirming these results with larger patient cohorts. In addition, donor polymorphisms in *UGT1A9* metabolizer gene rs6714486 (OR: 0.13; *p*-value: 0.032) were associated with a lower risk of suffering from de novo cancer. Genetic variants in *CYP2B6* metabolizer gene rs2279343 demonstrated an association with a risk of infection. Other variants in different locations of *SLCO1A2*, *ABCC2* and *ABCB1* transporter genes were associated with a lower risk of suffering from type 2 *diabetes mellitus*, chronic and acute nephrotoxicities and arterial hypertension. Results suggest that pharmacogenetics-derived information may be an important support for personalized drug prescription, clinical follow-up and the evolution of liver-transplanted patients.

Keywords: pharmacogenetics; immunosuppressant; ABC; CYP; SLCO

check for updates

Citation: Sendra, L.; Olivera, G.G.; López-Andújar, R.; Serrano, C.; Rojas, L.E.; Montalvá, E.M.; Herrero, M.J.; Aliño, S.F. Pharmacogene Variants Associated with Liver Transplant in a Twelve-Year Clinical Follow-Up. *Pharmaceutics* **2022**, *14*, 354. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020354

Academic Editors: Francisco Abad Santos, Pablo Zubiaur and Pedro Dorado

Received: 26 October 2021
Accepted: 31 January 2022
Published: 3 February 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

1. Introduction

In 2019, over 39,000 liver transplantations were performed worldwide [1]. Post-transplantation survival rate has continuously increased during the past decade to achieve 83% at 1 year, 71% at 5 years, 61% at 10 years, 51% at 15 years and 41% at 20 years [2] thanks to improved therapeutic follow-up of patients. However, transplanted patients have a 30% higher overall risk of exitus than healthy patients do. Furthermore, these patients frequently

present comorbidities [3], such as tumors, arterial hypertension, diabetes mellitus, organ rejection, infections and acute and chronic nephrotoxicities, which worsen their prognosis and welfare and generate a huge increase in healthcare spending. These clinical variables widely differ among patients, and whereas some of them have high survival rates over 10 years without clinical problems, others present several comorbidities, with frequent hospitalizations and reduced survival probability. The reasons underlying the different clinical evolution after liver transplantation are not completely elucidated, although it is thought that the distinct patients response to the transport and metabolism of the immunosuppressant drugs employed plays an important role [4]. Many different proteins are involved in drug processing, and these are encoded by pharmacogenes [5–8], which, as other genes, present natural variability among the population. Some of these genetic variants affect the normal function of some drugs and can result in deleterious effects on patients, and this is especially relevant in the liver transplant setting due to its pivotal role in drug metabolism and detoxification [9]. To date, only variants of *CYP3A5* gene have achieved the top level of scientific evidence quality (1A) regarding tacrolimus [10–12], the most widely employed immunosuppressant, whereas genetic variants of *CYP3A4* gene reached high [13,14], not top, quality (level 1B). In this regard, FDA includes *CYP3A* pharmacogenetics information in tacrolimus drug label. To date, most previous studies have focused on these genes and short follow-up periods. However, patients receive multiple drugs during their entire life, and some information, such as interactions or metabolism pathway saturation, could be overlooked. In the present work, we have developed a highly evidenced [15] SNPs panel that includes variants affecting transport, metabolism and signaling pathway genes involved in immunosuppressants and other prescribed drugs. Liver transplantation is a special setting given its pivotal role in drug metabolism and detoxification, as well as the fact that two genotypes (from the recipient and the donor) are participating [16]. Some drug transporters are encoded by the recipient genome, but key proteins in liver metabolism are encoded by the donor genotype, and these two DNA sequences could be different. For these reasons, genotyping both the donor and the recipient is required.

In the present work, DNA samples from donors and recipients of 87 liver transplantations (8 were excluded later due to early, less than 1 year, loss of follow-up) performed at Hospital La Fe (Valencia, Spain) during 2008 and 2009 were genotyped for the selected SNPs. The association of gene variants with clinical results during the 12-year clinical follow-up was evaluated. The goal of the present work was to evaluate the association between genetic variants of pharmacogenes and clinical long-term evolution of liver-transplanted patients. We studied both complex multi-factorial clinical events with diverse etiology, such as cancer and survival, and other events that could be more directly associated with a cause. Accordingly, the data analysis was addressed in two ways: (a) an analysis based on the hypothesis of a possible association of a subgroup of genes with a higher risk of cancer or lower survival. It has been reported that *MTHFR* variants with reduced gene function (rs1801131 and rs1801133) affect the folate cycle (Figure 1), which has a pivotal role in cell metabolism, and provoke important oncologic [17] and non-oncologic [18] clinical manifestations; (b) in the absence of hypothesis, the association of specific clinical parameters with all the variants of the pharmacogenes used in our panel was evaluated.

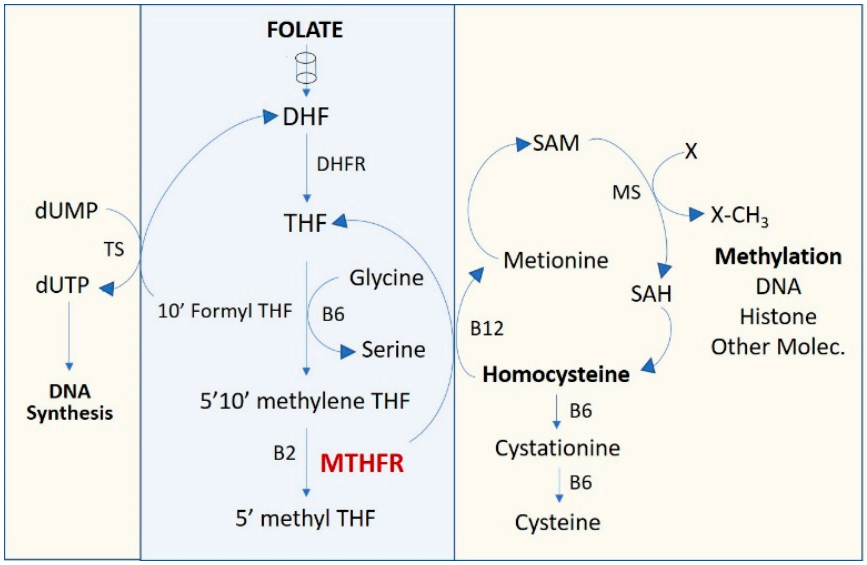

Figure 1. One-carbon metabolism pathway. DHF, dihydrofolate; DHFR, dihydrofolate reductase; dTMP, deoxythymidine monophosphate; dUMP, deoxyuridine monophosphate; MTHFR, methylenetetrahydrofolate reductase; SAM, S-Adenosyl methionine; THF, tetrahydrofolate.

2. Methods

2.1. Patients

According to the Declaration of Helsinki, the study was approved by the Institutional Ethics Board of the Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain. A written informed consent was obtained from all the subjects included in this study. All liver-transplanted adult patients (>18 years) operated on in 2008 and 2009 and treated with tacrolimus were assessed for potential study inclusion. The demographic, clinical and laboratory data were obtained from electronic health medical records (Table 1) under the approval of the Hospital Ethics Committee (references: 2021-370-1).

Table 1. Patients' demographics.

Gender (*n*)	Average ± SD	%
Male (m)	55	69.62
Female (f)	24	30.38
Weight (kg)	74.90 ± 13.10	
Age at Tx (years)	54.65 ± 10.24	
Diagnosis at Tx (*n*)		
Cirrhosis	70	88.61
Hepatitis C virus (HCV)	37	46.84
Hepatocellular carcinoma (HCC)	31	39.24
Tacrolimus dose (mg/kg/day)	0.09 ± 0.02	
Hospital stay (days)	24.14 ± 43.07	
Retransplantation required (*n*)	5	6.33
Exitus during follow-up		
n	26	32.91
Time (years)	9.22 ± 3.97	
De novo cancer during follow-up		
n	15	18.99
Time (years)	6.21 ± 2.40	
Clinical events during follow-up (*n*)		
De novo DM2	27	34.18
De novo arterial hypertension	29	36.71
Graft rejection	36	45.57
Infections	46	58.23
Acute nephrotoxicity	28	35.44

Table 1. *Cont.*

Gender (*n*)	Average ± SD	%
Chronic nephrotoxicity	24	30.38
Patients with emergencies	58	73.42
Average emergencies	7.17 ± 9.49	
Patients requiring hospitalizations	68	86.08
Average hospitalizations	4.81 ± 4.15	
Pharmacological treatment		
Tacrolimus	79	100.00
Micophenolic acid	36	45.57
Corticosteroids	75	94.94
Time (months)	11.00 ± 9.30	
Azatioprin	12	15.19
Induction therapy	4	5.06
Nephrotoxic drugs	11	13.92
CYP3A5 modifier drugs	5	6.33

2.2. Immunosuppressive Therapy

Tacrolimus (Prograf®, Astellas Pharma Inc., Valencia, Spain) was first administered orally within 24 h after surgery, unless there were any clinical complications, at an initial dose of 0.1 mg/kg/day, twice daily. The dosage was adjusted to achieve the target trough level, set between 10 and 15 ng/mL during the first 3 months, 5 and 15 ng/mL until 12 months and 5 and 10 ng/mL thereafter. Methylprednisolone (10 mg/kg) was intravenously administered during surgery. Then, the dosage was gradually reduced and was changed to orally administered prednisolone 1 week after surgery. The prednisolone dosage was gradually diminished and discontinued when clinically possible after the transplant.

Mycophenolate mofetil (MMF) was also administered to diabetic patients who received low doses of steroids, patients with hepatitis C virus infection (HCV) and those with early kidney failure during calcineurin inhibitor therapy. MMF was administered orally at a fixed dose of 1–1.5 g/day. Azathioprine (1.2 mg/kg/day) was used in patients with autoimmune hepatitis or primary biliary cirrhosis. Recipients with acute kidney failure received two 20 mg doses of IV basiliximab (Novartis, East Hanover, NJ, USA) within 6 h post transplantation and on day 4 after transplantation.

2.3. Clinical Outcomes

For tumor incidence, only those patients without hepatocellular carcinoma at surgery who had a de novo tumor during the follow-up period were considered. Acute rejection was determined by liver biopsy, and the histologic diagnosis was performed according to Banff criteria. *Diabetes mellitus* and arterial hypertension were diagnosed as usually done in clinical setting. As infections, we considered de novo infections suffered by a transplanted patient. Acute nephrotoxicity was defined as increased serum creatinine level greater than 0.5 mg/dl or 20–25% above the pre-transplant baseline coinciding with high tacrolimus blood levels that decrease with tacrolimus reduction, and excluding other conditions that cause renal impairment such as fever, infection, graft swelling or tenderness, oliguria, bleeding, dehydration, increased resistive index on Doppler ultrasonography or ureteral obstruction. Chronic nephrotoxicity was diagnosed based on clinical criteria: creatinine clearance <60 mL/min for at least 3 months, not coincidental with other above-mentioned clinical parameters causing renal impairment or use of other nephrotoxic drugs. Creatinine clearance was calculated using the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation (4) [19].

2.4. Single Nucleotide Polymorphism Identification

The genotyping of the SNPs was performed using the MassARRAY platform by SEQUENOM (currently Agena Bioscience, San Diego, CA, USA) at the SCSIE (Central Service of Experimental Research Support) at the Faculty of Medicine, Universitat de

Valencia, Spain. In brief, genomic DNA was extracted from whole blood of transplanted recipients and donors, collected in EDTA tubes. The DNA was purified from 200 µL of blood using a commercially available kit (Ultra Clean Blood Spin DNA Isolation Kit; MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA) following the manufacturer's instructions. After quantification using a spectrophotometer (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA) to determine the concentration and purity, DNA was preserved at −20 °C until further use. All the samples were then genotyped in triplicates to assess quality of the technique. Genotype and allele frequencies, MAF and chi-square for Hardy–Weinberg equilibrium determination of all gene variants evaluated are described at Table S1 of Supplementary Materials.

2.5. SNPs Panel

SNPs evaluated (Table 2) were selected based on previous studies associating genes with clinical outcomes in liver-transplanted patients, with the addition of other polymorphisms located in genes encoding drug transporters and other signaling pathways with potential interest.

Table 2. SNPs included within the pharmacogenetics panel.

Gene	Function	SNP	
ABCB1	Transporter	rs1045642 rs1128503 rs2032582 rs229109	rs2235013 rs2235033 rs3213619 rs9282564
ABCC2	Transporter	rs3740066 rs2273697	rs717620
ABCG2	Transporter	rs2231137	rs2231142
CYP2B6	Metabolizer	rs2279343	rs3745274
CYP2C19	Metabolizer	rs4244285	
CYP2C9	Metabolizer	rs1799853	rs1057910
CYP3A4	Metabolizer	rs2740574	
CYP3A5	Metabolizer	rs41303343 rs10264272	rs776746
MTHFR	Metabolizer	rs1801131	rs1801133
NOD2	Signaling pathway	rs2066844	rs2066845
SLCO1A2	Transporter	rs11568564 rs11568563	rs72559749
SLCO1B1	Transporter	rs2306283	rs4149056
TPMT	Signaling pathway	rs1142345 rs1800460	rs1800462
UGT1A9	Metabolizer	rs17868320 rs6714486	rs72551330

2.6. Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using SPSS (version 26; IBM; New York, NY, USA) and RStudio (version 1.4.1106; Boston, MA, USA) software. Multivariate logistic regression was employed to evaluate the association of genetic variants with the risk of exitus and tumor incidence during the follow-up period. All gene variants were included as variates; age, gender, hepatitis, hepatocellular carcinoma and cirrhosis were included as co-variates. We calculated hazard ratio (HR) and 95% confidence interval (CI) for clinical outcomes in subjects with all variants to evaluate associations. Survival and tumor logistic regression was performed in a step-wise fashion with SPSS software with false discovery

rate penalty, employing those *p*-values obtained for gene variants associated with logistic and Cox regression tests obtained in both exitus and tumor. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant. The time evolution of exitus and cancer prevalence during the follow-up with the significant gene variants selected by logistic regression and FDR was represented by Kaplan–Meier curves, designed by ggplot package in RStudio software. Significance was determined by log-rank analysis. The association of pharmacogene variants with the other clinical variables was evaluated with RStudio software by logistic regression and elastic net fitting (alpha: 0.5; lambda: min; 500 iterations). Elastic net in the fitting of linear or logistic regression models is a regularized regression method that linearly combines the L1 and L2 penalties of the lasso and ridge methods. It is a variable selection method that builds predictive models including only variables with statistical predictive power. It is especially suited for sets of data with many more variables than observations, and it does not produce *p*-values. Variables selected in the model are statistically relevant. Those variables that are not selected are excluded. Elastic net does not calculate either confidence intervals or *p*-values; it only generates predictive models, not inferential ones [20,21]. For those pharmacogenes variants associated with clinical events, Fisher and chi-square contingency analyses were performed depending on the presence of two or three possible genotypes, respectively. This permitted reconfirming the strongest associations.

3. Results

3.1. Patients' Genotypes

The genotypic and allelic frequencies of all SNPs evaluated from donors and recipients are shown in Table S1 (Supplementary Materials). MAF and chi-square to determine their Hardy–Weinberg equilibrium were also included.

3.2. Survival

The relation between pharmacogene variants and survival was evaluated. We determined the role of genetics in survival at the end of the 12-year study by multivariate logistic regression (Table 3). All SNP variants were included as variables, and age, gender, hepatitis and hepatocarcinoma were used as co-variables. In this study, false discovery rate was applied considering all *p*-values of the variants selected in order to penalize *p*-values and determine the association. Logistic regression with FDR penalty showed that only the CC variant in *MTHFR* rs1801131 for the recipient and the TT variant in *MTHFR* rs1801133 for the donor were significantly ($p = 0.036$ and $p = 0.032$, respectively) related to higher mortality, with 7.34 and 7.90 odds ratios, respectively.

Table 3. Pharmacogene variants significantly associated with survival rates after FDR calculation employing the *p*-values of selected variables in exitus and cancer risk studies by logistic and Cox regression.

				Model Data Logistic Regression				CI (95%)	
Gene	**SNP**	**D/R**	**Genotype**	**R^2 Cox Snell**	**R^2 Nagelkerke**	***p*-Value**	**OR**	**Lower**	**Upper**
MTHFR	rs1801131	R	CC	0.294	0.409	0.036	7.34	1.39	38.70
MTHFR	rs1801133	D	TT			0.032	7.90	1.67	37.43

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donor; R: recipient; OR: odds ratio; CI: confidence interval.

The individual role of these variants on patients' survival was graphed as a Kaplan–Meier curve (Figure 2), and significance was measured by log-rank. Only rs1801131 SNP demonstrated significant ($p = 0.013$) differences in survival rate.

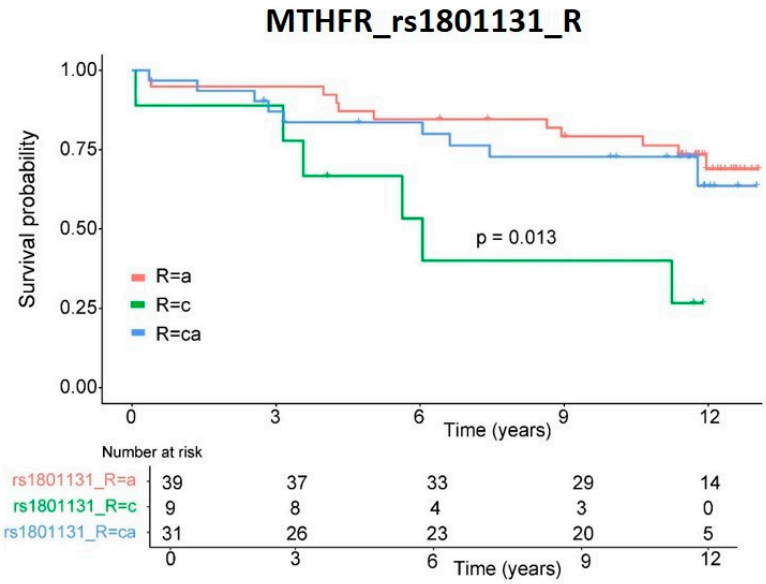

Figure 2. Survival rate. Kaplan–Meier representation of patients' survival rates depending on genetic variants in recipient *MTHFR* rs1801133 SNP. Significance was obtained by log-rank analysis.

3.3. Tumor

The relation between genotype and post-transplantation tumor incidence risk was also evaluated. As with survival, we studied this relation at the follow-up endpoint by multivariate logistic regression. Statistical analysis included all SNP variants from the donor and recipient as variables and gender, age, hepatitis and hepatocarcinoma as co-variables. After FDR *p*-value correction employing *p*-values of the different gene variants selected, only the TA variant in *UGT1A9* rs6714486 of the recipient (Table 4) was significantly ($p = 0.032$) related to lower tumor probability (HR: 0.13).

The incidence of tumors over time was represented as a Kaplan–Meier curve (Figure 3). This variant also proved statistically significant (*p*-value = 0.00062) when analyzed individually by log-rank.

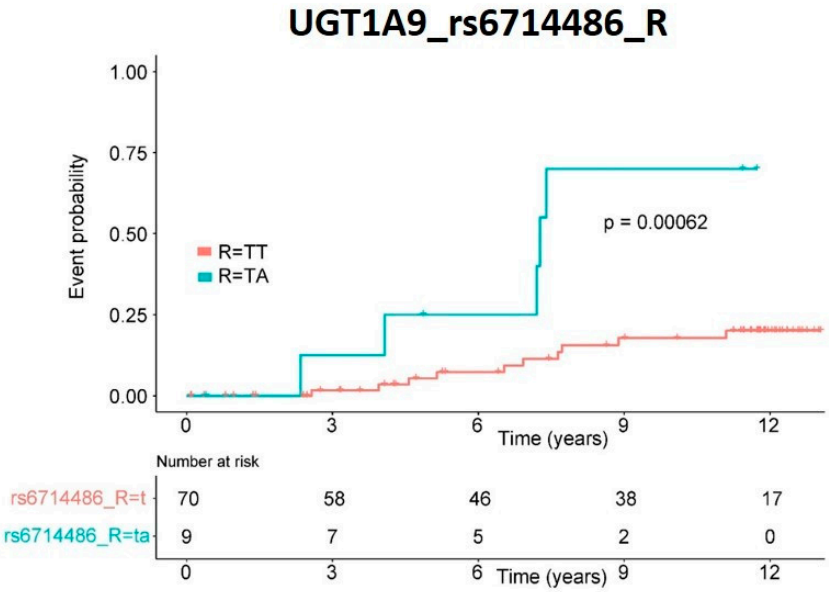

Figure 3. De novo cancer risk. Kaplan–Meier representation of patients' risk of cancer de novo appearance depending on genetic variants in recipient *UGT1A9* rs6714486 SNP. Significance was obtained by log-rank analysis.

Table 4. Pharmacogene variants significantly associated with tumor incidence after FDR calculation employing the *p*-values of selected variables in cancer risk and exitus studies by logistic and Cox regression.

				Model Data Logistic Regression				CI (95%)	
Gene	**SNP**	**D/R**	**Genotype**	**R^2 Cox Snell**	**R^2 Nagelkerke**	***p*-Value**	**OR**	**Lower**	**Upper**
UGT1A9	rs6714486	R	TA	0.248	0.399	0.032	0.13	0.030	0.583

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donor; R: recipient; OR: odds ratio; CI: confidence interval.

3.4. Other Clinical Variables

Other clinical variables commonly associated with liver-transplanted patients and their pharmacological treatment, including arterial hypertension, *diabetes mellitus*, organ rejection, infections and acute and chronic nephrotoxicity, were also evaluated by logistic regression. Since these pathologies are also present in the general population of similar age, we employed a more restrictive statistical analysis, logistic regression with elastic net penalty fitting, to exclude potential bias and ensure the assessment of pharmacogene variant association. All SNP genotypes were included as variates, and gender and age as co-variates. For selected variables, contingency tests (Fisher or chi-square) were performed to calculate their *p*-values and determine the differences between groups. When including all SNPs as variables, we did not find significant association of pharmacogene variants with organ rejection, arterial hypertension or acute nephrotoxicity. However, the results (Table 5) reported that the CA variant in gene *SLCO1A2* rs11568563 of the recipient was statistically associated with a lower risk (OR: 0.705; *p*-value = 0.002) of suffering from *diabetes mellitus*. Regarding chronic nephrotoxicity, which affected 30% of our cohort, statistical analysis determined that two variants in *ABCC2* were significantly associated with a reduced risk of suffering from this pathology. These variants were CT in rs374066 and TC in rs717620, both in the recipient, which presented ORs of 0.920 (*p*-value = 0.017) and 0.878 (*p*-value = 0.012), respectively. On the other hand, the GA genotype in rs2279343 of *CYP2B6* gene in the recipient was selected as a predictive variable by elastic net and associated with a higher risk of infection (OR: 1.116; *p*-value = 0.086).

In order to determine the role of the gene variants depending on their function, the SNPs located in genes encoding transporter proteins (ABC and SLCO) and in metabolizer and signaling pathway proteins (CYP, UGT, TPMT, MTHFR, NOD2) were separately re-evaluated. With this analysis, fewer variates were included, and thus the penalty applied was lower. These results permitted observing more associations.

Table 5. Pharmacogene variants associated with other clinical variables selected by multivariate logistic regression and regularized by elastic net statistical analysis. Full panel with all SNPs.

All SNPs							
Clinical Variables	**Gene**	**SNP**	**D/R**	**Genotype**	***n***	**%**	**OR**
Diabetes mellitus	*SLCO1A2*	rs11568563	R	CA †	15	18.99	0.705
Infections	*CYP2B6*	rs2279343	R	GA	35	44.30	1.116
Chronic nephrotoxicity	*ABCC2*	rs3740066	R	CT †	39	49.37	0.920
		rs717620	R	TC †	29	36.71	0.878

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donor; R: recipient; OR: odds ratio; *n*: number of patients with the indicated genotype; % proportion of patients with the indicated genotype within the population. † significant *p*-value (<0.05) after contingency test analysis.

3.5. Other Clinical Variables: Transporter Genes

In *diabetes mellitus* (Table 6), the association of CA variant in rs11568563 (*SLCO1A2*) of the recipient was confirmed, and OR was even lower (0.550; *p*-value = 0.002). In this sense,

whereas patients with the AA variant (n: 64) in this SNP were nearly distributed normally in the presence (n: 27) or absence (n: 37) of disease, none of the patients with the CA variant (n: 15) presented *diabetes mellitus* during the 12-year post-transplantation period. Besides this SNP, the CA variant in rs2231142 of gene *ABCG2* of the recipient was associated with a slightly higher (OR: 1.008; *p*-value = 0.082) risk of DM2. Two variants in two SNPs of *ABCB1* gene in the donor were related with DM2; the CT variant in rs1128503 had a lower risk (OR: 0.922; *p*-value = 0.122), and the TT variant in rs2032582 presented a slightly higher risk (OR: 1.062; *p*-value = 0.133), none of them being significant after contingency analysis.

Table 6. Transporter pharmacogene variants associated with clinical variables selected by multivariate logistic regression and regularized by elastic net statistical analysis.

Transporter Genes SNPs					**De Novo Disease (*n*)**		
Clinical Variables	**Gene**	**SNP**	**D/R**	**Genotype**	**Absence**	**Presence**	**OR**
Diabetes mellitus	*SLCO1A2*	rs11568563	R	A	37	27	-
				CA †	15	0	0.550
	ABCG2	rs2231142	R	C	48	21	-
				CA	4	6	1.008
	ABCB1	rs1128503	D	C	15	12	-
				CT	28	8	0.922
				TT	9	7	-
		rs2032582	D	GT	28	10	-
				G	20	11	-
				TT	4	6	1.063
Arterial hypertension	*ABCB1*	rs1045642	R	TC	27	15	-
				CC	7	11	-
				TT †	16	3	0.976
		rs1128503	R	CT	29	20	-
				CC	9	8	-
				TT †	12	1	0.859
		rs229109	R	GA	1	4	-
				AA	2	3	-
				GG †	47	22	0.857
	ABCC2	rs2273697	R	GG	29	23	-
				AA	3	2	-
				GA	18	4	0.942
Acute nephrotoxicity	*ABCB1*	rs1045642	D	CC	11	10	-
				TC	27	17	-
				TT †	13	1	0.916
Chronic nephrotoxicity	*ABCC2*	rs3740066	R	CC	15	12	-
				CT †	33	6	0.831
				TT	7	6	-
		rs717620	R	CC	27	20	-
				TC †	26	3	0.784
				TT	2	1	-

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donor; R: recipient; OR: odds ratio; † significant *p*-value (<0.05) after contingency test analysis.

In arterial hypertension, we found associations of variants in *ABCB1* and *ABCC2* genes of the recipient with lower risk. In *ABCB1* gene, the TT variant in rs1045642 (*p*-value = 0.017) and rs1128503 (*p*-value = 0.054) and the GG variant in rs229109 (*p*-value = 0.053) reported odds ratios of 0.976, 0.859 and 0.857, respectively. In *ABCC2*, the GA variant in rs2273697 (*p*-value = 0.103) showed an OR of 0.942. Only the TT variant in *ABCB1* rs1045642 of the donor presented association (*p*-value = 0.040) with a decreased risk of suffering from acute

nephrotoxicity, with an odds ratio of 0.916. In chronic nephrotoxicity, the same *ABCC2* gene variants observed with the whole panel proved significant but with even lower risk (OR 0.831; *p*-value = 0.017) for rs374066 in the recipient, as well as 0.784 OR (*p*-value = 0.012) in the TC variant in rs717620 of the recipient.

3.6. Other Clinical Variables: Metabolizer and Signaling Pathway Genes

Only the GA variant in rs2279343 of recipient *CYP2B6* gene demonstrated an association with higher risk of infections (Table 7), as observed in the whole panel study, though the OR was 1.240. When a contingency test was performed, the *p*-value did not prove significant (*p*-value = 0.086). No other variant had an association with any clinical variable studied.

Table 7. Pharmacogene variants associated with other clinical variables selected by multivariate logistic regression and regularized by elastic net statistical analysis. Metabolizer and target pharmacogenes.

Metabolizer and Target Genes SNPs					De Novo Disease (*n*)		
Clinical Variables	**Gene**	**SNP**	**D/R**	**Genotype**	**Absence**	**Presence**	**OR**
Infections	*CYP2B6*	rs2279343	R	AA	18	18	-
				GA	8	27	1.240
				GG	6	2	-

SNP: single nucleotide polymorphism; D: donor; R: recipient; OR: odds ratio.

4. Discussion

We have evaluated possible associations between genetic variants on a panel designed to include the SNPs with significant scientific evidence and liver-transplanted patients' clinical evolution during follow-up 12 years following the intervention. The panel included 37 SNPs from 14 genes: five transporters (18 SNPs), seven metabolizers (14 SNPs) and two signaling-pathway-related (5 SNPs). Differing from other studies, the aim of this work was not to determine direct drug–SNP associations but to analyze the role of pharmacogene variants in patients' clinical evolution, considering that, besides the immunosuppressant treatment, patients are submitted to other medicines and environmental factors, such as xenobiotics. In our cohort, we found that survival rate was associated with gene variants in *MTHFR*, and cancer incidence risk was associated with genotype in *UGT1A9* metabolizer gene. Other clinical parameters, except for infections, were associated mainly with transporter genes. The associations appeared both in pharmacogenes previously associated with drugs prescribed in transplantation settings and in other locations not previously reported. No variant in *CYP3A4* and *CYP3A5* genes (associated by other authors with tacrolimus) demonstrated significant association with clinical events in our study. In our results, genetic variants affecting transporter genes showed more significant associations with the clinical events studied.

Associations between survival outcome and genotype in pharmacogenes were found. Variants in *MTHFR* (methylenetetrahydrofolate reductase) metabolizer gene, rs1801131 and rs1801133, demonstrated association with a significantly lower survival rate. Although both *MTHFR* rs1801131 and rs1801133 variants showed significant association with exitus altogether when analyzed by multivariate logistic regression with the other genetic variants, rs1801133 did not show significant association with survival rate by the Kaplan–Meier method since this test analyzes the individual role of a variant with the clinical event probability over time. *MTHFR* plays a key role in folate metabolism and DNA synthesis and participates in the pharmacodynamics of several drugs. The one-carbon metabolic pathway (Figure 1) is mainly involved in supplying the metabolites required for DNA synthesis (folate cycle), as well as cell methylation (cysteine cycle) required for the epigenetic regulation of DNA and histones, homocysteine metabolism and serine catabolism, which contribute

to the re-methylation of homocysteine to methionine. The activity of MTHFR enzyme must determine the magnitude of folate product supply to the different cycles of the one-carbon metabolic pathway. Thus, the increase of blood homocysteine associated with functional deficiency of MTHFR affects the joints and cognitive capacity and increases the risk of heart disease [22], stroke, hypertension, embolism and other neurological signs. On the other hand, the deficient activity of MTHFR reduces the amount of required precursors for DNA synthesis, exerting a synergistic effect with methotrexate in rheumatic diseases [23]. This has been associated with unfavorable evolution in patients with neuroblastoma [24]. It has been suggested that a dietary supply of the precursors of these cycles could be beneficial in patients with deficient MTHFR [18,25], but this remains to be clarified.

In our study, the TA variant in *UGT1A9* was associated with a lower incidence (HR: 0.13) of de novo cancer. When the time of tumors' appearance was analyzed individually by Kaplan–Meier for this SNP, it also proved significant. The association of *UGT1A9* rs6714486 with lower cancer incidence in our study coincides with the data of other authors that recently correlated this variant with mycophenolate mofetil efficacy [26].

Regarding our results in diabetes mellitus, hypertension, nephrotoxicities and infections, large limitations were found with regard to proposing a biological mechanism that explains the associations. For this reason, we first relate the associations found with those previously described by other authors. In this sense, variants in up to four different SNPs in *ABCB1* gene have been associated with *diabetes mellitus*, arterial hypertension and acute nephrotoxicity. The same SNPs observed in this study have been associated by other authors [27,28] with different responses to a wide range of medicines, among which cyclosporine, tacrolimus, everolimus, glucocorticoids, sirolimus and many other habitual drugs used in organ transplantation settings are included. We also found significant associations between variants present in *ABCC2* gene (rs2273697 GA, rs717610 CT and rs3740066 TT) and clinical events, but protective ones in this case, such as a reduced risk of arterial hypertension and a significantly lower incidence of chronic nephrotoxicity. Variants in this gene have already been related by other authors to metabolism and pharmacokinetic issues of immunosuppressant drugs such as mycophenolic acid and tacrolimus [29–31]. All the SNPs in *ABC* genes described in the present work had already been associated with tacrolimus toxicity and efficacy issues in organ transplantation settings except for *ABCG2* gene and rs717620 of *ABCC2* gene. Variants in *ABCB1* and *ABCC2* genes, encoding transporters located in the apical side of tubular kidney cells, have been associated with nephrotoxicity caused by intracellular drug accumulation [32] due to an imbalanced efflux. Despite all of them presenting low levels of evidence, the data reported by other authors and the present work shed light on the importance of genetic variability in *ABC* superfamily genes. The importance of transporter genes and their variants in drug management and patients' health becomes manifest, as other genetic variants present in *SLCO* superfamily genes are associated with DM2 incidence (*SLCO1A2*). In our cohort, the presence of CA variant in *SLCO1A2* rs11568563 has been strongly associated with a lower risk of DM2 incidence. These results reinforce the observations supporting the idea that gene variants in *SLCO1A2* could be involved in the pathogenesis of metabolic syndrome, characterized by an increased incidence of DM2 [33].

Regarding *CYP2B6*, a higher risk of infection was observed in patients with a *CYP2B6* metabolizer gene variant (rs2279343 GA). Although the G variant in rs2279343 has been previously correlated with efavirenz [34], methadone, bupropion, nicotine and others [35], no previous studies reported an association with immunosuppressant drugs. We do not know the reasons that could justify its association with infections. However, some publications relate variants in this gene to the activity of the immune system, albeit with little evidence at this moment [36].

5. Conclusions

A panel of pharmacogene variants, including high-evidenced SNPs, permitted us to observe their associations with clinical events in liver-transplanted patients during 12-year

follow-up. We observed associations between exitus and genetic variants in *MTHFR* metabolizer gene, as well as between a decreased risk of de novo cancer and variants in *UGT1A9* metabolizer gene. In addition, genetic variants in *CYP2B6* metabolizer gene proved association with higher risk of infections. On the contrary, gene variants in *SLCO1A2*, *ABCB1* and *ABCC2* transporter genes were associated with a lower risk of suffering from type 2 *diabetes mellitus*, arterial hypertension and acute and chronic nephrotoxicities. Our results suggest that early pharmacogenetics analyses could help clinicians to personalize their pharmacological strategies during patient follow-ups, aiming to improve patients' survival and quality of life. Further studies will be required to confirm the interest in deepening the exploration of these variants to achieve more robust evidence.

Supplementary Materials: The following are available online at https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics14020354/s1, Table S1: Patients' genotype and allele frequencies. Chi-square calculation for Hardy-Weinberg equilibrium comparing the observed vs. the expected genotype frequencies was also calculated.

Author Contributions: Conceptualization, S.F.A. and M.J.H.; methodology, C.S. and G.G.O.; software, L.S.; validation, S.F.A., M.J.H. and L.S.; formal analysis, L.E.R.; investigation, C.S., L.E.R. and G.G.O.; resources, R.L.-A. and E.M.M.; data curation, L.S.; writing—original draft preparation, L.S.; writing—review and editing, S.F.A. and M.J.H.; visualization, R.L.-A. and E.M.M.; supervision, S.F.A.; project ad-ministration, M.J.H.; funding acquisition, S.F.A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was partially supported by funds from the Generalitat Valenciana (Spain), projects AP-149/08 and GE-007/10. L. Sendra's contract with CIBERer is financed by the "Infraestructura de Medicina de Precisión asociada a la Ciencia y Tecnología (IMPaCT, IMP/00009)", Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

Institutional Review Board Statement: According to the Declaration of Helsinki, the study was approved by the Institutional Ethics Board of the Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. The demographic, clinical and laboratory data were obtained from electronic health medical records under the approval of the Hospital Ethics Committee (reference: 2021-370-1).

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy and ethical reasons.

Acknowledgments: We would like to thank the Data Science, Biostatistics and Bioinformatics platform from Instituto de Investigación Sanitaria La Fe for their support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

A	Adenine
ABC	ATP-binding cassette
C	Cytosine
CI	Confidence Interval
CYP	Cytochrome P450
DHF	Dihydrofolate
DHFR	Dihydrofolate reductase
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoxyribonucleic acid
dTMP	Deoxythymidine monophosphate
dUMP	Deoxyuridine monophosphate
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
FDA	Food and Drug Administration
FDR	False Discovery Rate

G	Guanine
HCV	Hepatitis C virus
MAF	Minor Allele Frequency
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate reductase
NOD	Nucleotide-binding oligomerization domain
OR	Odds Ratio
SAM	S-Adenosyl methionine
SLCO	Solute Carrier
SNP	Single nucleotide polymorphism
T	Thymine
THF	Tetrahydrofolate
TPMT	Thiopurine methyltransferase
UGT	Uridine diphosphate glucuronyltransferase

References

1. Home—GODT. Available online: http://www.transplant-observatory.org/ (accessed on 15 July 2021).
2. Adam, R.; Karam, V.; Cailliez, V.; Grady, J.G.O.; Mirza, D.; Cherqui, D.; Klempnauer, J.; Salizzoni, M.; Pratschke, J.; Jamieson, N.; et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR)-50-year evolution of liver transplantation. *Transpl. Int.* **2018**, *31*, 1293–1317. [CrossRef]
3. Rub, A.; Anchez-Montes, C.S.; Aguilera, V.; Juan, F.S.; Ferrer, I.; Moya, A.; Montalva, E.; Pareja, E.; López-Andujar, R.; Prieto, M.; et al. Long-term outcome of "long-term liver transplant survivors". *Transpl. Int.* **2013**, *26*, 740–750.
4. Kisor, D.F.; Bodzin, A.S. Pharmacogenomics in liver transplantation: Testing the recipient and the ex-vivo donor liver. *Pharmacogenomics* **2018**, *19*, 753–756. [CrossRef] [PubMed]
5. Caputo, V.; Strafella, C.; Cosio, T.; Lanna, C.; Campione, E.; Novelli, G.; Giardina, E.; Cascella, R. Pharmacogenomics: An Update on Biologics and Small-Molecule Drugs in the Treatment of Psoriasis. *Genes* **2021**, *12*, 1398. [CrossRef] [PubMed]
6. Membrive Jiménez, C.; Pérez Ramírez, C.; Sánchez Martín, A.; Vieira Maroun, S.; Arias Santiago, S.; Ramírez Tortosa, M.C.; Jiménez Morales, A. Clinical Application of Pharmacogenetic Markers in the Treatment of Dermatologic Pathologies. *Pharmaceuticals* **2021**, *14*, 905. [CrossRef] [PubMed]
7. Cargnin, S.; Sances, G.; Shin, J.I.; Tassorelli, C.; Terrazzino, S. Gene polymorphism association studies in cluster headache: A field synopsis and systematic meta-analyses. *Headache J. Head Face Pain* **2021**, *61*, 1060–1076. [CrossRef] [PubMed]
8. Katara, P.; Yadav, A. Pharmacogenes (PGx-genes): Current understanding and future directions. *Gene* **2019**, *718*, 144050. [CrossRef] [PubMed]
9. Wang, J.; Li, K.; Zhang, X.; Teng, D.; Ju, M.; Jing, Y.; Zhao, Y.; Li, G. The correlation between the expression of genes involved in drug metabolism and the blood level of tacrolimus in liver transplant receipts. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 3429. [CrossRef]
10. Hendijani, F.; Azarpira, N.; Kaviani, M. Effect of CYP3A5*1 expression on tacrolimus required dose after liver transplantation: A systematic review and meta-analysis. *Clin. Transplant.* **2018**, *32*, e13306. [CrossRef]
11. Birdwell, K.; Decker, B.; Barbarino, J.M.; Peterson, J.F.; Stein, C.M.; Sadee, W.; Wang, D.; Vinks, A.; He, Y.; Swen, J.; et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines forCYP3A5Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin. Pharmacol. Ther.* **2015**, *98*, 19–24. [CrossRef]
12. Calvo, P.L.; Serpe, L.; Brunati, A.; Nonnato, A.; Bongioanni, D.; Olio, D.D.; Pinon, M.; Ferretti, C.; Tandoi, F.; Carbonaro, G.; et al. Donor CYP3A5 genotype influences tacrolimus disposition on the first day after paediatric liver transplantation. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2017**, *83*, 1252–1262. [CrossRef] [PubMed]
13. Lloberas, N.; Hesselink, D.A.; Van Schaik, R.H.; Grinyó, J.M.; Colom, H.; Van Gelder, T.; Elens, L. Detection of a rare CYP3A4 variant in a transplant patient characterized by a tacrolimus poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenomics* **2018**, *19*, 305–310. [CrossRef] [PubMed]
14. Berger, F.A.; Mulder, M.B.; ten Bosch-Dijksman, W.; van Schaik, R.H.N.; Coenen, S.; de Winter, B.C.M. Differences in CYP3A genotypes of a liver transplant recipient and the donor liver graft and adjustment of tacrolimus dose. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2019**, *85*, 1852. [CrossRef] [PubMed]
15. PharmGKB. Stanford University. 2020. Available online: https://www.pharmgkb.org (accessed on 25 October 2021).
16. Tron, C.; Woillard, J.-B.; Houssel-Debry, P.; David, V.; Jezequel, C.; Rayar, M.; Balakirouchenane, D.; Blanchet, B.; Debord, J.; Petitcollin, A.; et al. Pharmacogenetic—Whole blood and intracellular pharmacokinetic—Pharmacodynamic (PG-PK2-PD) relationship of tacrolimus in liver transplant recipients. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0230195. [CrossRef]
17. Gong, J.-M.; Shen, Y.; Shan, W.-W.; He, Y.-X. The association between MTHFR polymorphism and cervical cancer. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 7244. [CrossRef]
18. Liew, S.-C.; Das Gupta, E. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur. J. Med. Genet.* **2015**, *58*, 1–10. [CrossRef]
19. Levey, A.S.; Coresh, J.; Greene, T.; Marsh, J.; Stevens, L.A.; Kusek, J.W.; Van Lente, F.; Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate with Standardized Serum Creatinine Values. *Clin. Chem.* **2007**, *53*, 766–772. [CrossRef]

20. Huang, A.; Xu, S.; Cai, X. Empirical Bayesian elastic net for multiple quantitative trait locus mapping. *Heredity* **2014**, *114*, 107–115. [CrossRef]
21. Zou, H.; Hastie, T. Regularization and variable selection via the elastic net. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* **2005**, *67*, 301–320. [CrossRef]
22. Kang, S.S.; Wong, P.W.; Susmano, A.; Sora, J.; Norusis, M.; Ruggie, N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: An inherited risk factor for coronary artery disease. *Am. J. Hum. Genet.* **1991**, *48*, 536–545.
23. Ghodke-Puranik, Y.; Puranik, A.S.; Shintre, P.; Joshi, K.; Patwardhan, B.; Lamba, J.; Niewold, T.B.; Chopra, A. Folate metabolic pathway single nucleotide polymorphisms: A predictive pharmacogenetic marker of methotrexate response in Indian (Asian) patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics* **2015**, *16*, 2019–2034. [CrossRef] [PubMed]
24. Olivera, G.G.; Yáñez, Y.; Gargallo, P.; Sendra, L.; Aliño, S.F.; Segura, V.; Sanz, M.Á.; Cañete, A.; Castel, V.; De Mora, J.F.; et al. MTHFR and VDR Polymorphisms Improve the Prognostic Value of MYCN Status on Overall Survival in Neuroblastoma Patients. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 2714. [CrossRef] [PubMed]
25. Gao, X.; Sanderson, S.M.; Dai, Z.; Reid, M.A.; Cooper, D.E.; Lu, M.; Richie, J.P., Jr.; Ciccarella, A.; Calcagnotto, A.; Mikhael, P.G.; et al. Dietary methionine influences therapy in mouse cancer models and alters human metabolism. *Nature* **2019**, *572*, 397–401. [CrossRef] [PubMed]
26. Jiang, Z.; Hu, N. Effect of UGT polymorphisms on pharmacokinetics and adverse reactions of mycophenolic acid in kidney transplant patients. *Pharmacogenomics* **2021**, *22*, 1019–1040. [CrossRef] [PubMed]
27. Vanhove, T.; Annaert, P.; Lambrechts, D.; Kuypers, D.R.J. Effect of ABCB1 diplotype on tacrolimus disposition in renal recipients depends on CYP3A5 and CYP3A4 genotype. *Pharm. J.* **2016**, *17*, 556–562. [CrossRef] [PubMed]
28. Tron, C.; Lemaitre, F.; Verstuyft, C.; Petitcollin, A.; Verdier, M.-C.; Bellissant, E. Pharmacogenetics of Membrane Transporters of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation. *Clin. Pharmacokinet.* **2018**, *58*, 593–613. [CrossRef] [PubMed]
29. Genvigir, F.D.V.; Nishikawa, A.M.; Felipe, C.R.; Helio, T.-S., Jr.; Oliveira, N.; Salazar, A.B.C.; Pestana, J.M.; Doi, S.Q.; Hirata, M.H.; Hirata, R.D.C. Influence ofABCC2, CYP2C8, andCYP2J2Polymorphisms on Tacrolimus and Mycophenolate Sodium-Based Treatment in Brazilian Kidney Transplant Recipients. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **2017**, *37*, 535–545. [CrossRef]
30. Božina, N.; Lalić, Z.; Nađ-Škegro, S.; Borić-Bilušić, A.; Kaštelan, Ž.; Trkulja, V. Steady-state pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant patients: Exploratory analysis of the effects of cyclosporine, recipients' and donors' ABCC2 gene variants, and their interactions. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **2017**, *73*, 1129–1140. [CrossRef]
31. Thishya, K.; Sreenu, B.; Raju, S.B.; Kutala, V.K. Impact of Pharmacogenetic Determinants of Tacrolimus and Mycophenolate on Adverse Events in Renal Transplant Patients. *Curr. Drug Metab.* **2021**, *22*, 342–352. [CrossRef]
32. Ivanyuk, A.; Livio, F.; Biollaz, J.; Buclin, T. Renal Drug Transporters and Drug Interactions. *Clin. Pharmacokinet.* **2017**, *56*, 825–892. [CrossRef]
33. Lu, X.; Chan, T.; Cheng, Z.; Shams, T.; Zhu, L.; Murray, M.; Zhou, F. The 5′-AMP-Activated Protein Kinase Regulates the Function and Expression of Human Organic Anion Transporting Polypeptide 1A2. *Mol. Pharmacol.* **2018**, *94*, 1412–1420. [CrossRef] [PubMed]
34. Nwogu, J.N.; Gandhi, M.; Owen, A.; Khoo, S.H.; Taiwo, B.; Olagunju, A.; Berzins, B.; Okochi, H.; Tallerico, R.; Robertson, K.; et al. Associations between efavirenz concentrations, pharmacogenetics and neurocognitive performance in people living with HIV in Nigeria. *AIDS* **2021**, *35*, 1919–1927. [CrossRef] [PubMed]
35. Langmia, I.M.; Just, K.S.; Yamoune, S.; Brockmöller, J.; Masimirembwa, C.; Stingl, J.C. CYP2B6 Functional Variability in Drug Metabolism and Exposure Across Populations—Implication for Drug Safety, Dosing, and Individualized Therapy. *Front. Genet.* **2021**, *12*, 692234. [CrossRef] [PubMed]
36. Lv, C.; Huang, L. Xenobiotic receptors in mediating the effect of sepsis on drug metabolism. *Acta Pharm. Sin. B* **2019**, *10*, 33–41. [CrossRef] [PubMed]